



**Análise econômica preliminar da produção
de biossurfactantes ramnolipídicos por
Pseudomonas aeruginosa utilizando
glicerina bruta como matéria-prima**

Eduardo de Oliveira Júnior

Projeto Final em Engenharia de Bioprocessos

Orientadores:

Priscilla Filomena Fonseca Amaral (*DSc*),

Denise Maria Guimarães Freire (*DSc*),

Rui de Paula Vieira Castro (*MSc*),

Rio de Janeiro

Agosto de 2022

Análise econômica preliminar da produção de biossurfactantes
ramnolipídicos por *Pseudomonas aeruginosa* utilizando
glicerina bruta como matéria-prima

Eduardo de Oliveira Júnior

Projeto Final em Engenharia de Bioprocessos submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenharia de Bioprocessos.

Aprovado por:

Prof. Eliana Flávia Camporese Sérvulo (*DSc*)

Vanessa Alves Lima Rocha (*DSc*)

Orientado por:

Prof. Priscilla Filomena Fonseca Amaral (*DSc*)

Prof. Denise Maria Guimarães Freire (*DSc*)

Rui de Paula Vieira Castro (*MSc*)

Rio de Janeiro, RJ –

Brasil

Agosto de 2022

Ficha Catalográfica

Júnior, Eduardo de Oliveira.

Análise econômica preliminar da produção de biossurfactantes ramnolipídicos por *Pseudomonas aeruginosa* utilizando glicerina bruta como matéria-prima / Eduardo de Oliveira Júnior. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2022.

XII, 87, p.

(Projeto Final) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2022.

Orientadores: Priscilla Filomena Fonseca Amaral, Denise Maria Guimarães Freire e Rui de Paula Vieira Castro.

1. Ramnolipídeos. 2. *Pseudomonas aeruginosa*. 3. Glicerina

Dedico à minha sobrinha Celina, à minha Tia Andréia e ao meu Tio Binho, que comemoraria essa vitória como se fosse dele.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Isabela e à minha irmã Lorena, por todo o apoio e amor incondicional em todos os momentos da vida.

Ao Jorge e ao Roberto, por toda nossa história.

Aos meus avós, por todo o cuidado.

À Tia Lu, por toda a amizade que construímos.

À Priscilla, pelo apoio e disponibilidade.

À Denise, por me dar a oportunidade de trabalhar no LaBiM.

Ao Douglas, Francisco, Fábio, Bianca, Manu e Duda, que contribuíram muito nessa jornada até aqui.

À Vanessa, por todo o apoio, suporte e conhecimento.

E ao Rui, um exemplo de pessoa e profissional que sempre acreditou no meu potencial e a quem sempre serei grato pelas oportunidades.

Resumo do Projeto Final apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia de Bioprocessos.

Análise econômica preliminar da produção de biossurfactantes ramnolipídicos por *Pseudomonas aeruginosa* utilizando glicerina bruta como matéria-prima

▪

Eduardo de Oliveira Júnior

Agosto, 2022.

Orientadores: Prof. Priscilla Filomena Fonseca Amaral (DSc),

Prof. Denise Maria Guimarães Freire (DSc),

Rui de Paula Vieira Castro (MSc)

Surfactantes são moléculas anfipáticas cujas propriedades conferem aplicação em diversos setores industriais. Os tensoativos mais utilizados em escala industrial são sintéticos e muitas vezes provêm de matéria-prima petroquímica, o que torna a espécie de difícil degradação. Os biossurfactantes apresentam boa biodegradabilidade e possui ampla aplicação. Apesar disso, representam uma parcela muito pequena do mercado, sendo o alto custo de manufatura seu maior empecilho, dificultando sua produção em larga escala. Esse trabalho teve como objetivo testar a viabilidade econômica da produção de ramnolipídeo a partir de glicerina bruta, matéria-prima barata e abundante no mercado brasileiro. Foi verificado que o cultivo com glicerina bruta não apresentou diferença significativa em termos de formação de produto em comparação com a glicerina comercial e, pelas suas vantagens ecológicas, foi definida como a matéria-prima dos demais cultivos realizados. Foram executados cultivos em biorreatores de bancada comparando dois processos: produção com 45 e 30 g/L iniciais de glicerol. Os dados obtidos foram usados no *SuperPro Designer* para o cálculo da viabilidade econômica. Os dois processos se mostraram viáveis e de interesse econômico, com o cultivo de 45 g/L apresentando taxa de retorno de investimento maior que 50% e valor presente líquido de UD\$194,9M em 15 anos, com payback menor que 2 anos.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO.....	1
Capítulo I – Revisão Bibliográfica.....	4
1.1 Glicerol.....	4
1.1.1 Diesel e Biodiesel.....	4
1.1.2 Produção e Destino da Glicerina	6
1.1.3 Mercado de Glicerina	10
1.2 Surfactantes	14
1.2.1 Propriedades.....	14
1.2.2 Classificações dos Surfactantes	18
1.2.2.1 Sintéticos.....	18
1.2.2.2 Biossurfactantes	21
1.3 Ramnolipídeos.....	24
1.3.1 Estrutura	24
1.3.2 Propriedades	26
1.3.3 Aplicações	28
1.3.3.1 Saúde	28
1.3.3.2 Agroindústria.....	29
1.3.3.3 Limpeza Doméstica.....	30
1.3.3.4 Cosméticos	31
1.3.3.5 Biorremediação	31
1.4 Análise Econômica Preliminar.....	32
1.4.1 Análise de Mercado e Demanda	33
1.4.2 Precificação	36
1.5 Objetivo.....	38
1.5.1 Objetivos Específicos	38
Capítulo II - Metodologia.....	39
2.1 Cultivos	39
2.1.1 Microrganismo	39
2.1.2 Pré-inóculo	39
2.1.4 Cultivo em Biorreator utilizando Glicerina Bruta	40

2.2	Métodos analíticos	40
2.2.1	Biomassa	40
2.2.2	Quantificação de Glicerol e Ramnolípídeo.....	40
2.3	Análise Econômica	41
2.3.1	Custo Fixo dos Equipamentos	41
2.3.2	Custo Fixo de Investimeto.....	42
2.3.3	Custos de manufatura.....	44
2.3.3.1	Custo de matérias-primas.....	45
2.3.3.2	Custo de mão-de-obras.....	46
2.3.3.3	Custo de Utilidades.....	46
2.3.4	Análise Econômica	47
Capítulo III - Resultados e Discussão		49
3.1	Produção de Ramnolípídeo.....	49
3.1.1	Comparação entre glicerina bruta e glicerina comercial	49
3.1.2	Cultivo em Biorreator utilizando Glicerina Bruta	51
3.2	Simulação no <i>SuperPro Designer</i>	54
3.2.1	Projeto A: produção com 45 g/L iniciais de glicerol	54
3.2.1.1	Lista de Equipamentos.....	58
3.2.1.2	Custo Fixo de Investimento.....	60
3.2.1.3	Custo de Operação	60
3.2.1.3.1	Custo de matéria-prima	60
3.2.1.3.2	Custo de Mão-de-obra	61
3.2.1.4	Estudo da Viabilidade Técnico-Econômica.....	61
3.2.2	Projeto B: produção com 30g/L iniciais de glicerol	63
3.2.2.1	Lista de Equipamentos.....	64
3.2.2.2	Custo fixo de Investimento	66
3.2.2.3	Custos de Operação	66
3.2.2.3.1	Custo de matéria-Prima	66
3.2.2.3.2	Custo de mão-de-obra	67
3.2.2.3.3	Custo de Utilidades.....	67
3.2.2.4	Estudo de viabilidade técnico-econômica (EVTE)	68
3.2.3	Comparação dos projetos	69
Capítulo IV - Conclusões.....		74
4.1	Considerações Finais.....	74
4.2	Perspectivas Futuras.....	75

Capítulo V - Referências	76
--------------------------------	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Reação de transesterificação de óleos vegetais para produção de biodiesel. Retirado de MOTA et al. (2009).	5
Figura 2: Produção de Biodiesel e glicerina gerada a partir da criação do PNPB (2004) e porcentagens de biodiesel adicionadas ao diesel previstas pelo CNPE (Conselho Nacional de Política Energética). Elaborado a partir de Anuário ANP (2021).	6
Figura 3. Esquema da produção de glicerol pela rota da epicloridrina. Retirado de Beatriz et. al. (2011)	7
Figura 4 Principais origens de glicerina. Retirado de Almeida (2012).	9
Figura 5 Distribuição da glicerina produzida no Brasil. Elaborado a partir de Comex Stat (2022).	11
Figura 6 Exportação de Glicerina bruta e refinada e suas precificações.....	12
Figura 7 Representação de um surfactante genérico. Retirado de Daltin (2011).....	15
Figura 8 Esquemática da formação de micelas no meio oleoso e aquoso. Retirado de Daltin (2011).	15
Figura 9 Propriedade de umectância. Retirado de Daltin (2011).	16
Figura 10 Ângulo de contato entre líquido e superfície diminuído pela propriedade de molhabilidade. Retirado de Daltin (2011)	16
Figura 11 (a) Sequência da coalescência em sistema com duas fases. (b) Efeito da adição de surfactante acima da CMC formando emulsões óleo/água. Adaptado de Daltin (2011).....	17
Figura 12 Sequência do efeito cunha: a retirada da sujidade oleosa do substrato aumentando a área de superfície para estabilização do tensoativo formando uma emulsão.....	17
Figura 13 Representação esquemática dos surfactantes catiônicos (A), aniônicos (B), anfóteros (C) e não iônicos (D). A cauda corresponde à porção apolar e a cabeça à porção polar. Retirado de Felipe & Dias (2016).	19
Figura 14 Tipos de biossurfactantes e principais microrganismos produtores. Retirado de Rodrigues (2016).	22
Figura 15 Principais formas de ramnolípídeos. Retirado de Rikalovic (2015)	25
Figura 16 Valores de agentes tensoativos e suas aplicações. Retirado de Duarte (2018).	28
Figura 17 Fluxograma de informações necessárias para a análise econômica e suas	

plataformas de obtenção. Fonte: Magalhães (2019).	34
Figura 18 Detalhamento dos fatores de Lang	44
Figura 19 Cinética da produção de ramnolipídeos em frascos agitados com (a) glicerina bruta e (b) comercial.	50
Figura 20 Cinéticas dos cultivos em batelada simples em biorreator de 8L utilizando glicerina bruta em concentrações iniciais de glicerol de (a) 45 g/L e (b) 30g/L.	52
Figura 21 Fluxograma do processo obtido no SPD e sua divisão em setores.	57
Figura 22 Distribuição dos custos de equipamentos do projeto A.....	58
Figura 23 Distribuição dos custos de operação da planta A.....	60
Figura 24 Distribuição dos custos de equipamentos do projeto B.....	64
Figura 25 Distribuição do custo operacional para a planta B.	66
Figura 26 Fluxograma alternativo com tempo de ciclo otimizado para a planta projetada para cultivo com 30 g/L.	72

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 Lista de equipamentos principais na planta A	59
Quadro 2 Principais parâmetros da análise econômica obtidos e as considerações feitas para obtê-los (planta A)	62
Quadro 3 Lista dos equipamentos principais do projeto B	65
Quadro 4 Principais parâmetros da análise econômica obtidos e as considerações feitas para obtê-los (planta B)	68

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Preços de insumos retirados de COMEXSTAT (2022).....	45
Tabela 2 Preços de utilidades utilizadas	46
Tabela 3: Valores de conversões e produtividades dos cultivos em frasco.....	50
Tabela 4 Parâmetros da produção de ramnolipídeo em biorreator de bancada para os cultivos A e B.....	53
Tabela 5 Principais parâmetros utilizados e obtidos para a simulação no SPD para o projeto A.....	56
Tabela 6 Quantidade matéria-prima utilizadas para a produção e seus custos anuais	61
Tabela 7 Principais parâmetros utilizados e obtidos para a simulação no SPD para o projeto B.....	63
Tabela 8 Quantidade de matéria-prima utilizada para a produção na planta B.....	67
Tabela 9 Custo de utilidade da planta B.....	68

NOMENCLATURAS

t_i – Ano de projeto

COM – Custo de manufatura

Col – Custo de mão de obra (*Operating Labour*)

Cr_m – Custo de matéria-prima (*Raw Material*)

Cul – Custo de Utilidades)

$C_{s,u}$ – Custo do preço do combustível

d – Depreciação

Fdc – *Facillity-dependent cost*

FCC – fluxo de caixa acumulado

CF_i – Fluxo de caixa no ano i

T – Imposto

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

PBT– *PayBack Time*

PBTD - *PayBack Time descontado*

P_v – Preço de venda

MSP - preço mínimo de venda

p – Produção anual

RML – ramnolipídeo

SPD – *SuperPro Design*

TIR – taxa interna de retorno

IR – Taxa de Interna de retorno de Interesse

VPL – valor presente líquido

PV_i – Valor presente no ano i

PV_i – Valor presente no ano i

INTRODUÇÃO

Surfactantes são moléculas anfipáticas que possuem simultaneamente em sua estrutura porções hidrofílicas e hidrofóbicas, o que confere à classe a capacidade de reduzir a tensão superficial ou interfacial do sistema onde são aplicadas. Com isso, os surfactantes podem apresentar propriedades de molhabilidade, emulsificação, umectância, detergência, formação de espuma e solubilização; possuindo, por conseguinte, possíveis aplicações nos setores de cosméticos, agroquímicos, alimentício, petrolífero, farmacológico, construção civil, têxtil e outros (Nitschke & Pastore, 2002).

Os tensoativos mais utilizados em escala industrial são sintéticos e muitas vezes provêm de matéria-prima petroquímica, o que torna a espécie de difícil degradação (Nitschke & Pastore, 2002). Além de apresentar toxicidade para espécies marinhas quando permanecerem em ecossistemas aquáticos por tempo e quantidade suficientes, os tensoativos podem causar fenômenos danosos ao ecossistema, como o “cisne-de-detergente” - formação de uma camada de espuma densa que carrega poluentes por longas distâncias, diminuindo a entrada de raios solares e fotossíntese, causando mortalidade de espécies locais (Chimello et al., 2012). Outro fenômeno observado com a permanência de surfactantes em ambientes aquáticos é a eutrofização, visto que alguns detergentes possuem grupamentos fosfato, que servem como nutrientes para microrganismos superficiais, diminuindo a quantidade de oxigênio e causando mortalidade de outras espécies (Costa et al., 2007; Olkowska et al., 2014).

Neste contexto, a produção de surfactantes por rotas biotecnológicas, como os biossurfactantes, surge como alternativa ecologicamente favorável, visto seu melhor tempo de biodegradabilidade. Comparados aos surfactantes sintéticos, os biossurfactantes apresentam, ainda, de maneira geral, melhores resultados de concentração micelar crítica (principal parâmetro de eficiência de tensoativos); estabilidade em diferentes valores de pH, temperatura e força iônica; baixa toxicidade tanto para espécies selvagens como para humanos, favorecendo sua aplicação nos setores cosméticos e alimentícios (Felipe & Dias, 2017).

Essas vantagens foram responsáveis por um grande crescimento no interesse na produção industrial de biossurfactantes, liderada pelas empresas Ecover (Bélgica), a Urumqui Unite (China), a BASF-Cognis (Alemanha), a Saraya (Japão) e a

MG Intobio (Coreia do Sul). É estimado que o mercado de biotensoativos apresente em 2023 um faturamento de cerca de UD\$ 2,7 bilhões de dólares e um volume de comercialização de aproximadamente 524 mil toneladas. Com aplicação em produtos de cuidados pessoais e na biorremediação, o maior volume de venda é referente aos soforolípideos, pertencente à classe de glicolípideos (Felipe & Dias, 2017). Outro biodetergente de grande interesse comercial é o ramnolípideo: no setor agrícola, os ramnolípideos já são utilizados como biofungicida para prevenir o crescimento de fungos patogênicos em frutas e vegetais e são comercializados pela JeneilBiotech e Ecover, localizadas nos Estados Unidos e na Bélgica, respectivamente (Winterburn e Martin, 2012). Apesar dos biossurfactantes já serem comercializados e apresentarem boas perspectivas de faturamento para os próximos anos (UD\$ 2,7 bilhões em 2023), é importante perceber que este valor representa uma parte ainda pequena do valor de faturamento de mercado de surfactantes totais, com previsão de UD\$ 43 bilhões para o ano de 2023 – cerca de 6,2% (GlobeNewswire, 2016).

O maior obstáculo para a substituição de surfactantes sintéticos por biossurfactantes e ampliação deste no mercado de tensoativos é alto o custo de sua produção (Fernandes et al., 2016). Para minimizar essa barreira, diversos estudos têm sido feitos utilizando diferentes estratégias. Uma vertente que deve receber atenção é o estudo do uso de diferentes substratos, buscando algum que apresente baixo custo, grande disponibilidade e seja renovável (Gudiña et al., 2010). No Brasil, uma alternativa é o uso de glicerina bruta, que por ser um subproduto da produção de biodiesel, está disponível no mercado em grande quantidade e tem baixo custo (Sousa et al., 2012).

Assim, este trabalho teve como objetivo contribuir com a viabilização da produção e comercialização de biossurfactantes do tipo ramnolípideo (RML) pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* ao realizar uma análise técnico-econômica preliminar. Para isso, foi testada a substituição de uma matéria-prima comumente utilizada para esse processo, a glicerina comercial (mínimo de glicerol 99,5%), por um material mais barato, a glicerina bruta (80-83% de glicerol). Os resultados foram ainda aplicados no software *SuperPro Designer* (SPD), e utilizados para desenvolver uma análise econômica preliminar.

A análise econômica preliminar é uma metodologia considerada simples, rápida e de baixo custo, demandando apenas as informações fundamentais dos processos

estudados. Através dela é possível estimarmos balanços de massa, energia, dimensionamento dos equipamentos de forma aproximada, impacto de emissões e análise de custo. Assim, é possível entender os críticos dos processos estudados e a viabilidade da sua implementação. Para isso, foram utilizados dados bibliográficos relacionados a preço de venda, demanda do bioproduto e etapas *downstream* em conjunto com dados de produção de ramnolipídeos produzidos em biorreator de bancada – cultivo com 30 e 45 g/L de glicerol a partir de glicerina bruta. A partir desses resultados foram avaliados dois projetos diferentes e suas viabilidades econômicas discutidas.

Capítulo I – Revisão Bibliográfica

1.1 Glicerol

1.1.1 Diesel e Biodiesel

O óleo diesel é um combustível fóssil não-renovável presente em maior quantidade no petróleo, sendo obtido a partir do seu processo de craqueamento. É muito utilizado no transporte de cargas, passageiros e embarcações; além de estar presente em diversos setores industriais através de geradores de energia elétrica, como máquinas para construção civil, máquinas agrícolas e locomotivas. Mesmo sendo o principal combustível comercializado no Brasil, é também conhecido pelo seu elevado nível poluente (Petrobras, 2020).

Uma das razões do seu potencial poluidor é a presença de enxofre, gerando trióxido e dióxido de enxofre, responsáveis pelo fenômeno de chuva ácida e afetando o meio ambiente local. Seu maior prejuízo, entretanto, é a emissão de óxidos de carbono responsáveis pela destruição da camada de ozônio (Mota et al., 2009). Assim, como uma alternativa para substituir os combustíveis fósseis surgem os biocombustíveis. São definidos pela ANP como substâncias derivadas de biomassa renovável, como biodiesel e etanol, que podem ser empregadas em motores a combustão interna ou para outro tipo de geração de energia, podendo substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil (ANP, 2021). O biodiesel é definido como um combustível composto de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e/ou esterificação de matérias graxas, de gorduras de origem vegetal ou animal – sendo a principal rota de produção de biodiesel a partir de óleos vegetais e álcoois de cadeia curta (etanol ou metanol) utilizando catálise básica (figura 1).

As principais vantagens de sua utilização são a diminuição da dependência do petróleo e a diminuição da emissão de gases do efeito estufa. Diante disso, diversas políticas públicas para incentivar sua produção foram criadas e acarretaram, a nível mundial, em grande aumento da produção do biocombustível ao longo das últimas décadas (Pinheiro et al., 2010). No Brasil, a criação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) em 2004 foi o principal impulsionador para a produção. Seu objetivo foi inserir um programa sustentável de produção e inserção

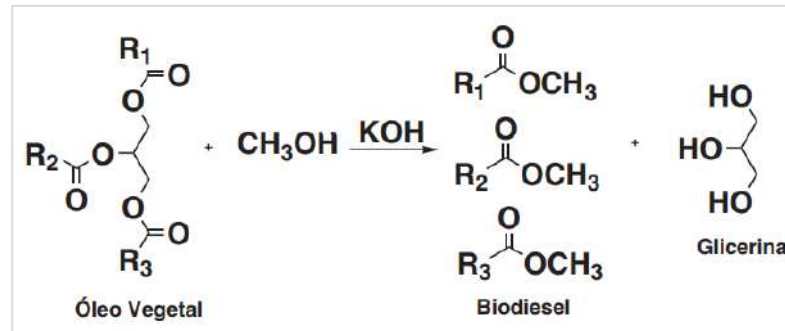


Figura 1: Reação de transesterificação de óleos vegetais para produção de biodiesel. Retirado de MOTA et al. (2009).

biodiesel na matriz energética brasileira, produzindo-o a partir de diferentes oleaginosas e diversas regiões, garantindo preços competitivos, qualidade e suprimento ao passo que promovia a inclusão (Ching & Rodrigues, 2007). Com isso, em 2004, a mistura do biocombustível com diesel fóssil, no teor de 2% (B2), passou a ser comercializada voluntariamente. Através do artigo 2º da Lei nº 11.097/2005 foi implementada a obrigatoriedade da mistura de biodiesel em todo o território brasileiro, a partir de 2008. Diante do amadurecimento do mercado, a porcentagem exigida legalmente foi gradativamente aumentada, atingindo 13% em 2021. Esse incentivo do Governo Federal impactou diretamente na produção na produção de biodiesel, que saltou de 736 m³ em 2005 para 6.432.008 m³ em 2020 (figura 2). Em 2020, a Região Sul foi a maior produtora de biodiesel, com volume de aproximadamente 2,7 milhões de m³ equivalente a 42,6% da produção nacional – sendo o Rio Grande do Sul produtor de equivalente a 27,9% do total nacional. Vale ressaltar que neste ano a capacidade nominal (capacidade para a qual as plantas industriais foram projetadas) de produção de biodiesel no Brasil era de cerca de 10,2 milhões de m³ (28,4 mil m³/dia). Porém, a produção nacional foi de 6,4 milhões de m³, isto é, 62,9% da capacidade total (ANP, 2021). É fácil inferir que diante do crescente incentivo legal para inserção do biodiesel no mercado e uma grande capacidade produtiva nacional, a produção de biodiesel tende a crescer consideravelmente.

Apesar desse cenário, existem fatores que podem ser limitantes para esse crescimento. Um deles é o fato de o aumento na produção de biodiesel ocasionar ganho na geração de seus coprodutos, sendo o principal deles a glicerina. A quantidade gerada pode variar em função da matéria-prima utilizada: a soja é a principal, correspondendo a 71,4% do total em 2020 – seguido de gordura animal (11,3%) e óleo de algodão (1,7%), sendo os 15,6% restantes de outras fontes como

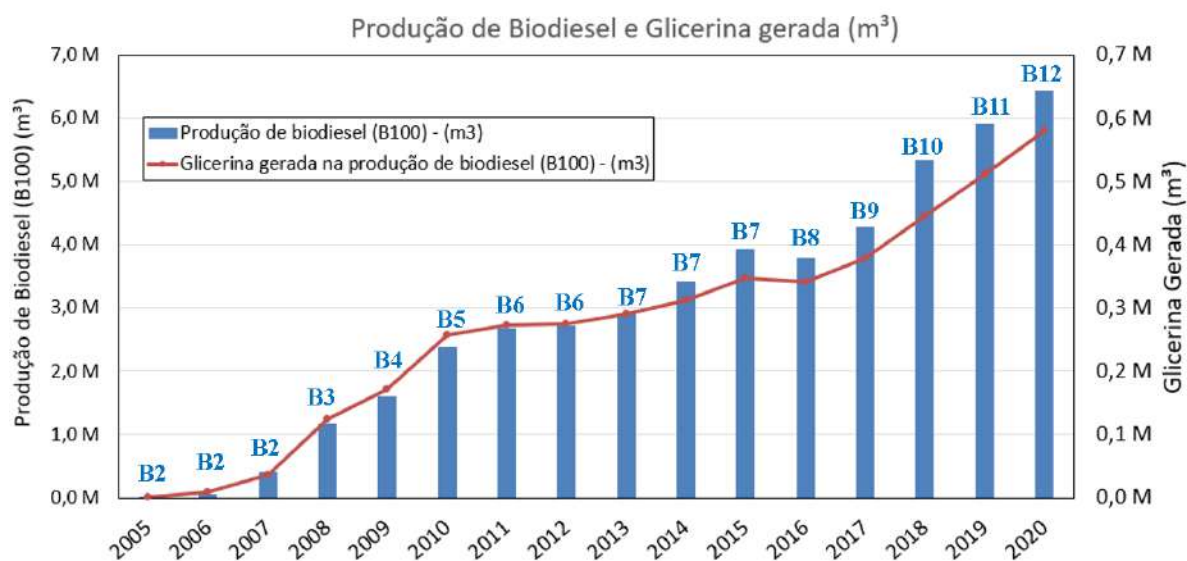


Figura 2: Produção de Biodiesel e glicerina gerada a partir da criação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB em 2004) e porcentagens de biodiesel adicionadas ao diesel previstas pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE). Elaborado a partir de Anuário ANP (2021).

óleo de palma, amendoim, nabo-forrageiro, girassol, canola, milho, palmiste, fritura e outros materiais graxos. Apesar da variação, é gerado em média glicerina em quantidade equivalente a cerca de 10% do volume do biocombustível (ANP, 2021). Na prática, a viabilidade da produção de biodiesel pode ser prejudicada pela oferta excessiva de glicerina no mercado, tornando o processo insustentável e indo contra sua premissa inicial. Para que o avanço da produção de biodiesel se mantenha viável, faz-se necessário que a demanda de glicerol acompanhe o crescimento, garantindo que o coproduto tenha destinação adequada – seja para as aplicações já estabelecidas ou desenvolvendo novas rotas tecnológicas capazes de agregar valor ao coproduto.

1.1.2 Produção e Destino da Glicerina

O glicerol é um tri-álcool com 3 carbonos cujo nome sistemático (IUPAC) é 1,2,3-propanotriol. É um líquido incolor, com gosto adocicado, inodoro, higroscópico e muito viscoso, derivado de fontes naturais ou petroquímica. Sua produção comercial ocorre desde o final dos anos 40 a partir da epícloridrina obtida do propileno – que por sua vez é obtido por combustíveis fósseis (figura 3). A oferta gerada pelo crescimento

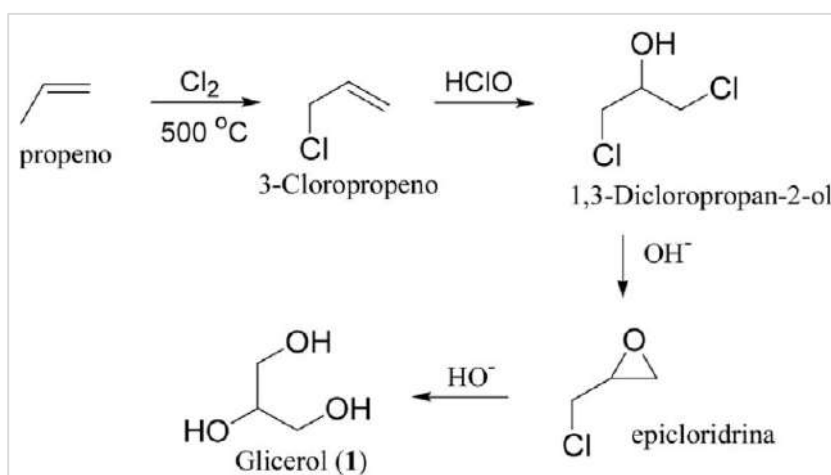


Figura 3. Esquema da produção de glicerol pela rota da epicloridrina. Retirado de Beatriz et. al. (2011)

do biodiesel tem causado o fechamento de plantas de geração de glicerol e abertura de fábricas que a utilizam como matéria-prima (Beatriz et al., 2011).

O biodiesel é gerado a partir da transesterificação do triglicerídeo com um álcool (normalmente metanol), que é adicionado em excesso para maior rendimento – relação molar entre 9:1 e 12:1. Ao final do processo são formadas duas fases que podem ser separadas por decantação e/ou centrifugação. A fase leve é rica em biodiesel e contém também metanol e glicerina – que pode ser separada por decantação. A fase pesada é rica de glicerina e contém metanol e após a retirada do álcool obtém-se a glicerina bruta, que possui cerca de 20% de impurezas como catalisador, álcool não reagido, ácidos graxos, sais inorgânicos, mono-, di- e triglicerídeos, ésteres, água e impurezas inerentes às matérias-primas; tornando seu uso inapropriado para determinadas indústrias (Beatriz et al., 2011; Pinheiro et al., 2010). Por conta disso, a glicerina em sua forma bruta possui poucas aplicações diretas, sendo necessário etapas de purificação para a maioria delas.

A sua forma pura possui diversas aplicações industriais. Devido a sua reatividade polifuncional, por exemplo, tem aplicação na fabricação de resinas sintéticas e poliésteres. Pode ser utilizada como lubrificante para a indústria têxtil (Morrison, 1994). Tem importante papel no processamento do tabaco ao ajudar a manter a umidade e prevenir o ressecamento deste produto (Barbosa, 2012). No setor alimentício sua utilidade é como aditivo alimentar em função de suas propriedades estabilizantes, antioxidantes, sequestrantes, emulsificantes e umectantes, sendo utilizados em carne processada, leite condensado e produtos de panificação (Grand

View Research, 2020). É um importante agente crioprotetor para microrganismos por não permitir a formação de cristais de gelo na célula, mantendo a parede celular estável e a célula viva (Brisson et al., 2001; Nevoigt and Stahl, 1997). Além disso, serve de solvente para outros compostos (Brisson et al., 2001). No setor da construção civil, a glicerina pode atuar como substituto de um plastificante de alto valor utilizado para fazer o concreto deslizar pela tubulação, acelerando os trabalhos, mas com grande praticidade (Almeida, 2012).

A principal aplicação do glicerol tem sido no setor de cuidados pessoais, cosméticos e farmacêutico. É amplamente utilizado em produtos para a pele por diferentes motivos: possui valor nutritivo e propriedades curativas, age como umectante e evita a perda de umidade do produto para que não seque tão rapidamente, pode ser usado como ingrediente de fragrância, tem baixa toxicidade, proporciona lubrificação etc. Assim, faz parte da formulação de sabonetes, pasta de dente, creme de barbear e ainda produtos de cabelo. Além disso, possui características laxativas e sabor adocicado, sendo incorporado em muitos remédios – sua viscosidade também é interessante para formulação de xaropes. Vale destacar que a demanda por produtos relacionados a cuidados pessoais e farmacêuticos tem apresentado grande crescimento como resultado da melhoria do estilo de vida e aumento da conscientização sobre a saúde em economias emergentes na Ásia-Pacífico e na América Latina (Industry ARC, 2017).

Com esse cenário, o mercado de glicerol movimenta anualmente bilhões de dólares: no ano de 2021, movimentou mundialmente U\$2,5B. A estimativa é que apresente CAGR de 6.4% entre 2021 em 2027, chegando a movimentar U\$3,7B em 2028. O aumento da oferta de glicerol deve-se principalmente ao biodiesel, que em 2020 gerou 59,5% da receita do produto. Apesar de representar a maior parcela, existem grandes limitações para a utilização da glicerina provinda do biodiesel por conta da presença de outros produtos e impurezas mencionados anteriormente, de maneira que a maioria dos mercados mencionados utilizam preferencialmente glicerina provinda de outras origens (Grand View Research, 2021).

Atualmente as principais formas de obtenção desse produto são a partir da produção de biodiesel, de ácidos graxos e de sabão; através das reações de transesterificação, hidrólise e saponificação (figura 4) - que geram glicerina de

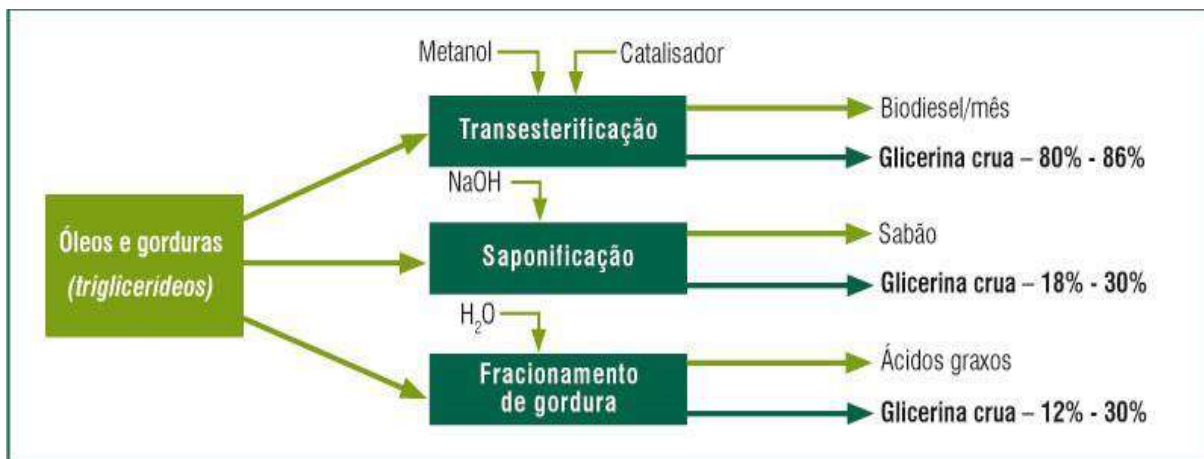


Figura 4 Principais origens de glicerina. Retirado de Almeida (2012).

diferentes classificações. O termo glicerina trata-se do glicerol em sua forma comercial, sendo usado para produtos com pureza acima de 95%. Existem quatro tipos de glicerina que podem ser obtidas: a bruta (gerada a partir do biodiesel e contendo resíduos como catalisador, álcool, água, ácido graxos e sabões); a loira (glicerina bruta após passar por tratamento ácido e remoção dos ácidos graxos, atingindo concentração entre 75 e 85% de glicerol); a de grau farmacêutico (glicerina loira após ser bidestilada a vácuo e tratada com absorventes, resultando em mais de 99% de pureza); e a de grau alimentício (isenta de etanol, que pode ser obtida pela hidrólise de óleos e gorduras) (BODIESELBR, 2008).

Dessa maneira, glicerinas provindas dos processos saponificação e hidrólise são mais puras e possuem valor de mercado maior do que a glicerina bruta, que para ser utilizada no setor cosmético e farmacêutico requer passar por processos de purificação. Algumas características do glicerol como alto ponto de ebulição (290°C) e alta viscosidade dificultam e encassem sua purificação, impedindo que a bruta seja vendida de maneira competitivas às demais glicerinas. Por esse motivo, indústrias pertencentes a esses setores não têm interesse de utilizar glicerina provinda do biodiesel, tornando a demanda por glicerina bruta ainda menor. No sentido contrário, para aumentar suas possibilidades de destino, muitos métodos de purificação vêm sendo desenvolvidos, podendo incluir destilação, filtração por membrana, troca iônica, extração química, adsorção entre outros (Alves et al., 2017).

O principal ainda é a destilação a vácuo, mesmo sendo um dos métodos mais caros e de maior demanda energética. Por esse motivo, é um processo viável para produtores de biodiesel de grande porte, porém os médios e pequenos produtores tem

dificuldade de implementação devido às restrições financeiras e alta demanda de energia (SHEN, 2009.). Os demais métodos têm recebido atenção e sido continuamente desenvolvidos com intuito de torná-los econômica e operacionalmente viáveis, porém ainda são considerados métodos emergentes. O amadurecimento desses métodos a longo prazo vai representar uma ótima alternativa para o tratamento da glicerina bruta de pequenos e médios produtores, garantindo que possam ser utilizadas em diversos setores da indústria e aumentando sua demanda. A curto prazo, é importante que o mercado seja capaz de absorver essa glicerina em sua forma bruta.

1.1.3 Mercado de Glicerina

De acordo com as informações de BIODIESELBR (2021) referentes à expectativa de produção em 2021 e sua porcentagem de exportação, juntamente com os dados de exportação do Comexstat, foi possível estimar os destinos do glicerol (bruto e refinado) brasileiro e analisar o cenário. O total de glicerina no Brasil em 2021 foi em torno de 630mil toneladas, das quais estima-se que 487mil (77%) foram exportadas. Além disso, desse total, 297mil toneladas foram destinadas a China (61%), sendo 83% desse valor na forma bruta. Dessa maneira, de toda a glicerina produzida, 23% vão parar o mercado interno e cerca de 39% é exportada na forma de glicerina bruta para a China (Comex Stat, 2022; BIODIESELBR, 2021), sendo, portanto, este um destino muito importante a ser avaliado na discussão acerca viabilidade da produção de biodiesel.

A glicerina bruta exportada para a China é utilizada para a produção de ácido fórmico, sendo o país um grande produtor e exportador desse produto. Em 2021, o Brasil importou 25 mil toneladas deste produto, sendo 42% provindo da China e 41% dos EUA. Suas aplicações são: na indústria do couro e têxtil como agente de tingimento, indústria de pesticidas na produção de triadimefon, na indústria química como formamida ou dimetilformamida, na indústria médica na produção de aminoácidos t, cafeína, vitamina B1, na indústria da borracha com a coagulação do látex (Peiter et al., 2016; Comex Stat, 2022). A exportação de glicerina para a China e para o resto do mundo tem acompanhado o aumento da produção biodiesel brasileiro ao longo da última década. Uma consequência disso, entretanto, é uma queda acentuada em seu preço de venda devido à grande oferta. A média do preço

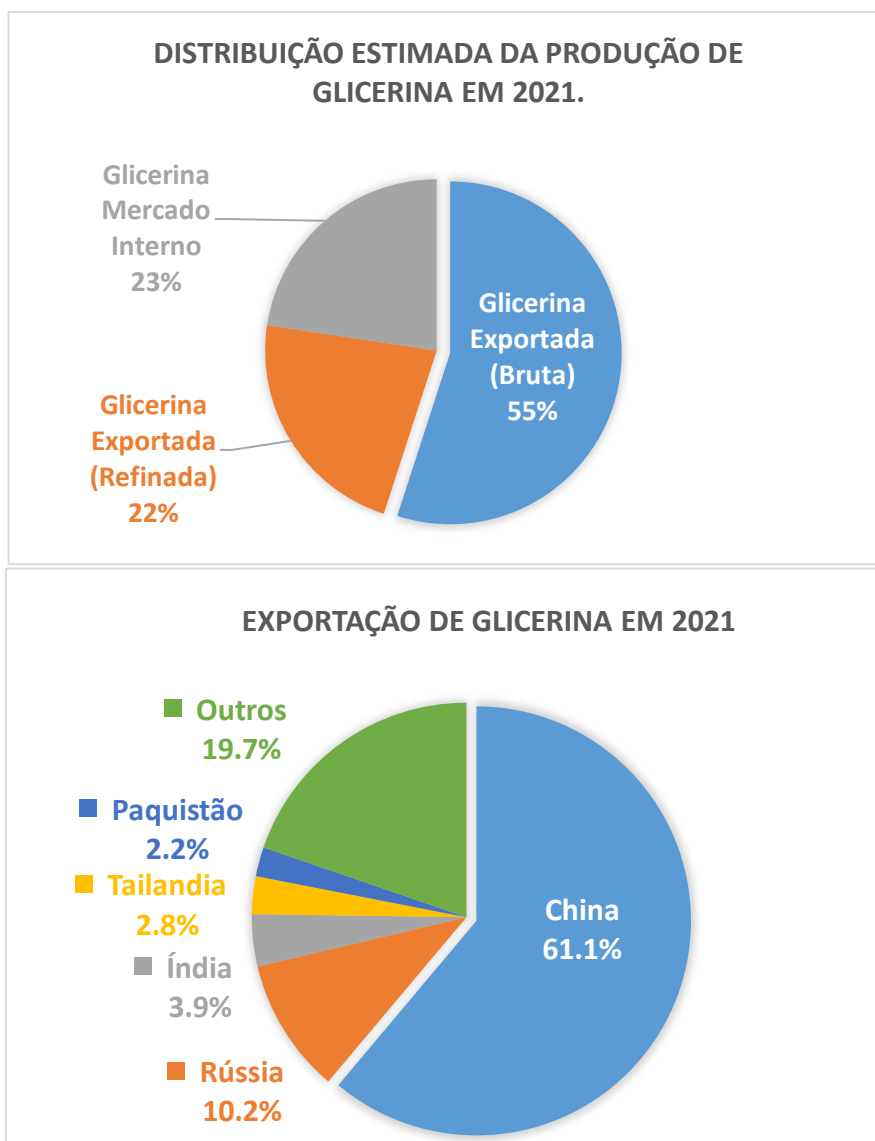


Figura 5 Distribuição da glicerina produzida no Brasil. Elaborado a partir de Comex Stat (2022).

de venda de 1997 a 2004, ano de criação do PNPB, foi de UD\$1,02/kg enquanto nos últimos 5 anos foi de UD\$0,37/kg.

Além do baixo valor de venda desse coproduto, outro fator que pode dificultar ou inviabilizar sua exportação são questões logísticas. Por questões de localização geográfica, algumas produtoras são muito afetadas por custos de transporte. Em alguns casos, essas empresas estocam parte da glicerina excedente, o que pode até paralisar a produção de biodiesel em razão da escassez de capacidade em tanque utilizados para armazenamento de glicerina (Pinheiro et al., 2010).

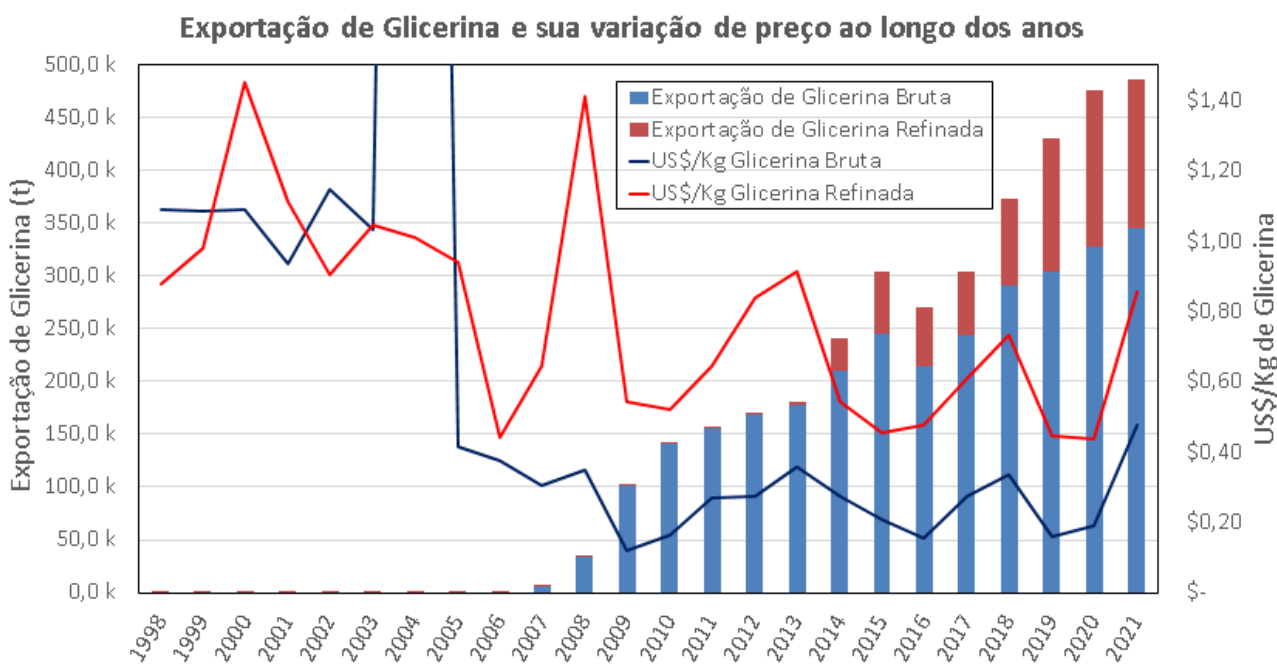


Figura 6 Exportação de Glicerina bruta e refinada no Brasil e suas precificações.

A exportação de glicerina bruta é importante para manter a sustentabilidade da produção de biodiesel, mas não garante que a crescente oferta será suprida, sendo necessário o desenvolvimento de novas tecnologias para a valorização do glicerol. Podemos destacar a utilização do coproduto para a alimentação de ruminantes: do ponto de vista nutricional, é fonte alimentar energética alternativa e promissora na formulação de ração animal, podendo substituir em parte, os concentrados energéticos da ração, principalmente o milho (Peiter et al., 2016). Outra alternativa é a utilização do glicerol para a síntese de polipropileno, composto que é tradicionalmente produzido a partir de fontes petroquímicas pelo processo de craqueamento a vapor e é aplicado em diferentes setores - desde a fabricação de brinquedos até materiais automotivo (Peiter et al., 2016). Devido à grande aplicação do polipropileno, estudos estão sendo realizados para se obter uma forma de produção ambientalmente mais amigável, como sua produção a partir de propeno (proveniente de glicerina), cujo processo além de diminuir a problemática da dependência do uso petróleo como matéria-prima para a produção de polipropileno e plásticos, promove um destino apropriado para a glicerina. Também se destaca o propanodiol, que é um composto intermediário para a síntese de compostos cíclicos e monômeros para poliésteres, poliuretanos e polipropileno tereftalato. É produzido quase exclusivamente a partir de um derivado do petróleo, o óxido de propileno,

mediante processos químicos convencionais, sendo a hidrogenólise de uma solução aquosa de glicerol uma alternativa (Peiter et al., 2016).

Cultivos microbianos utilizando glicerol como substrato para geração de diferentes produtos são alternativas altamente exploradas na literatura: produção de etanol com *Escherichia coli* (Melo et al., 2016) , ácido cítrico com *Yarrowia lipolytica* (Silva, 2000), lipídeos com *Lipomyces lipofer* (Spier, 2014), pigmentos com *Monascus ruber* (Meinicke, 2008), poli(3-hidroxi-butirato) por *Cupriavidus necator* (Apati, 2012), endotoxinas por *Bacillus thuringiensis* (Barbosa, 2009) hidrogênio, 1,3-propanodiol e metano por consórcios microbianos (Faber, 2021), biossurfactantes por *Pseudomonas aeruginosa* (Santos et al., 2016) etc.

Pelo cenário descrito, entende-se que a glicerina gerada pode vir a ser uma importante fonte de renda ou um fator que inviabiliza a produção de biodiesel. A exportação da glicerina bruta tem se encarregado de manter a produção do biocombustível viável, porém existem grandes problemas associados a esse destino. Os custos de transporte associados ao baixo preço de venda podem tornar essa alternativa inviável para muitos produtores. Além disso, cria-se uma grande dependência da demanda do mercado externo, em especial na China. Para um cenário mais seguro esse coproduto deve ser prioritariamente direcionado para o mercado interno. Sua demanda na forma de glicerina bruta é limitada, sendo necessário que passe por processos de purificação que possuem alto custo – inviabilizando esta etapa para pequenos e médios produtores. Uma alternativa é o desenvolvimento de novas tecnologias capazes de baratear essa purificação, tornando a glicerina vinda de biodiesel aplicável em diferentes setores do mercado interno. Essas alternativas, entretanto, não garantem que haverá demanda suficiente para suprir toda a oferta de glicerina gerada quando a produção de biodiesel atingir o nível que se pretende nos próximos anos – atualmente a produção é brasileira é de apenas 62,9% da sua capacidade já instalada. A principal solução para esse problema é a criação de novas demandas de glicerina capazes de absorver esse excedente de mercado. Neste contexto, esse trabalho tratou de produzir biossurfactantes ramnolipídicos a partir de glicerol bruta e em sua forma refinada e fazer uma análise econômica a partir dos resultados encontrados.

1.2 Surfactantes

1.2.1 Propriedades

Surfactantes são compostos orgânicos anfipáticos, caracterizados por possuírem simultaneamente em sua estrutura porções hidrofílicas e hidrofóbicas (figura 7). Sua parte apolar (portanto, solúvel em óleos, hidrocarbonetos e gordura) é normalmente constituída por cadeias carbônicas (lineares, ramificadas ou cíclicas). Usualmente são classificados em função da sua parte polar, que pode apresentar grupos iônicos (cátions ou ânions), não iônicos ou anfóteros - que se comportam como ácido ou base dependendo do pH do meio (Daltin, 2011).

Com grande possibilidade de estruturas, os surfactantes possuem em comum seu caráter anfifílico. Isso faz com que, quando adicionados a um solvente polar, como água, se acumulem na superfície do solvente – isto é, na interface solvente/ar. Esse arranjo das moléculas surfactantes na superfície diminui a força de coesão entre as moléculas do solvente localizadas na superfície, ocasionando a redução da tensão superficial (ou interfacial). Quando ocorre a saturação da superfície temos o valor mínimo de tensão superficial. A adição de mais moléculas de surfactante após esse ponto causa outro fenômeno: a formação de micelas. As moléculas adicionadas interagirão entre si formando agregados moleculares, denominados de micelas, no interior da fase polar ou apolar (figura 8). A concentração a partir da qual se inicia o processo de formação de micelas é denominada de concentração micelar crítica (CMC), uma propriedade intrínseca e característica de cada surfactante. Muitas vezes é usado como parâmetro de qualidade e pode variar em função das estruturas polares e apolares, temperatura, força iônica e presença de eletrólitos (Daltin, 2011).



Figura 8 Representação de um surfactante genérico. Retirado de Daltin (2011)

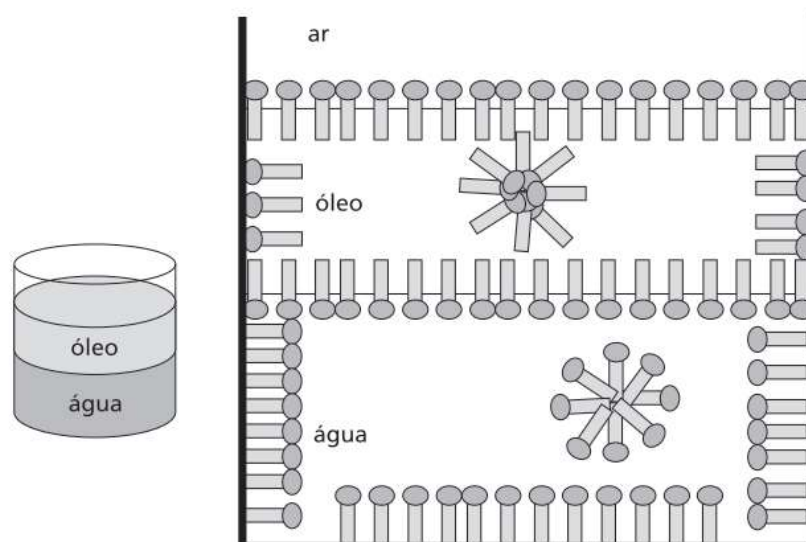


Figura 7 Esquematização da formação de micelas no meio oleoso e aquoso. Retirado de Daltin (2011).

Diante dessas características e comportamentos, os surfactantes podem apresentar diferentes propriedades muito úteis para a indústria. Uma delas é a molhabilidade: termo usado para descrever o quanto uma gota de líquido se espalha sobre uma superfície, molhando-a. Compostos de alta tensão superficial tendem a se manter em formato esférico sobre uma superfície devido a alta força de coesão das moléculas na superfície. Com a presença de tensoativos essa força é diminuída e o líquido, que se espalha mais sobre a superfície e adquire um formato chamado de lente. Quanto menor o ângulo de contato entre líquido e superfície, maior a área de interação e, portanto, mais molhada a superfície se encontra (figura 9). Outra propriedade interessante é a umectância (figura 10), que nada mais é do que o mesmo

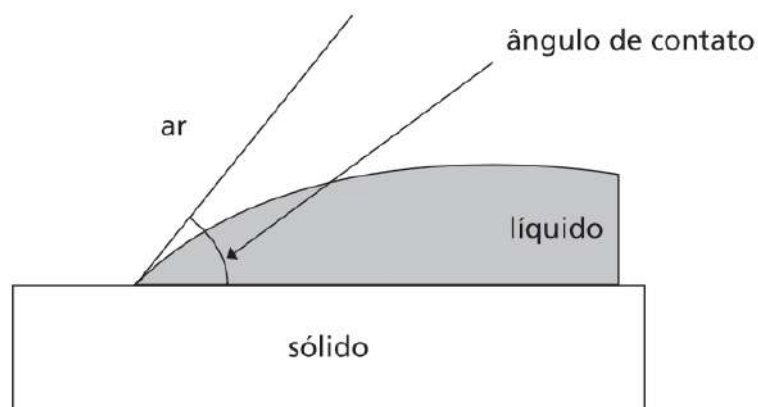


Figura 10 Ângulo de contato entre líquido e superfície diminuído pela propriedade de molhabilidade. Retirado de Daltin (2011)

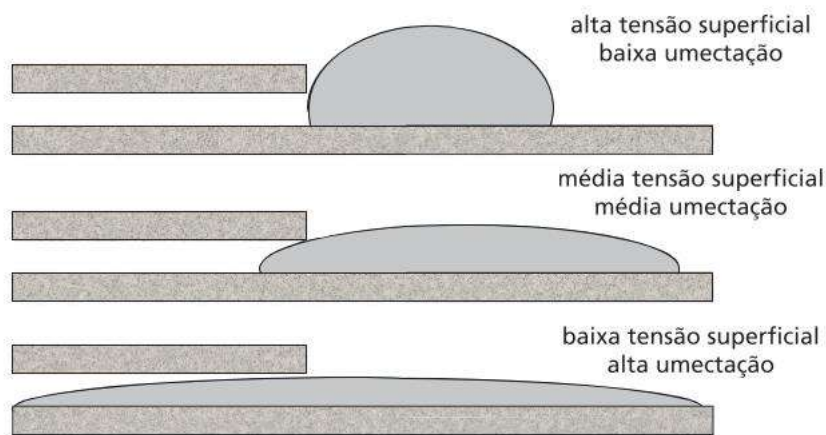


Figura 9 Propriedade de umectância. Retirado de Daltin (2011).

fenômeno da molhabilidade em outra aplicação: quando a superfície é complexa e o líquido tende a penetrar no material por capilaridade, esse processo é facilitado com a presença de surfactantes (Daltin, 2011).

Outra propriedade importante é a emulsibilidade (figura 11). Se em um recipiente tivermos compostos polares e apolares (como óleo e água), mesmo com agitação, haverá a separação de fases – fenômeno conhecido como coalescência. Se nesse sistema ocorrer adição de surfactantes acima da CMC e agitação, serão formadas novas área de contato óleo-água para onde os surfactantes irão se deslocar formando gotículas - visto que é uma conformação mais estável do que sua permanência em micelas. O sistema se torna uma emulsão que pode ser mais ou menos estável a depender de diversos fatores: tipos de tensoativos usados, da afinidade das partes polar e apolar pelas fases, do balanço de peso entre essas partes etc (Daltin, 2011).

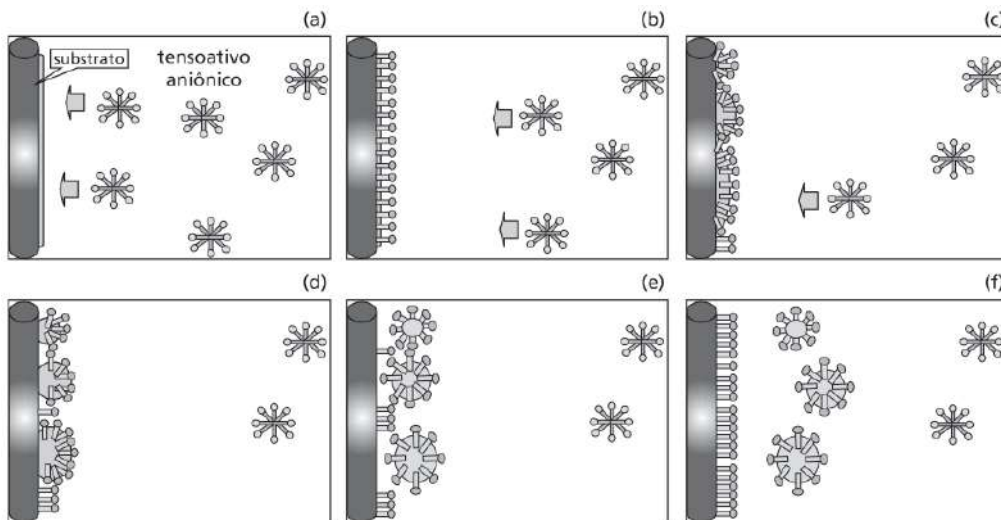


Figura 12 Sequência do efeito cunha: a retirada da sujidade oleosa do substrato aumentando a área de superfície para estabilização do tensoativo formando uma emulsão.

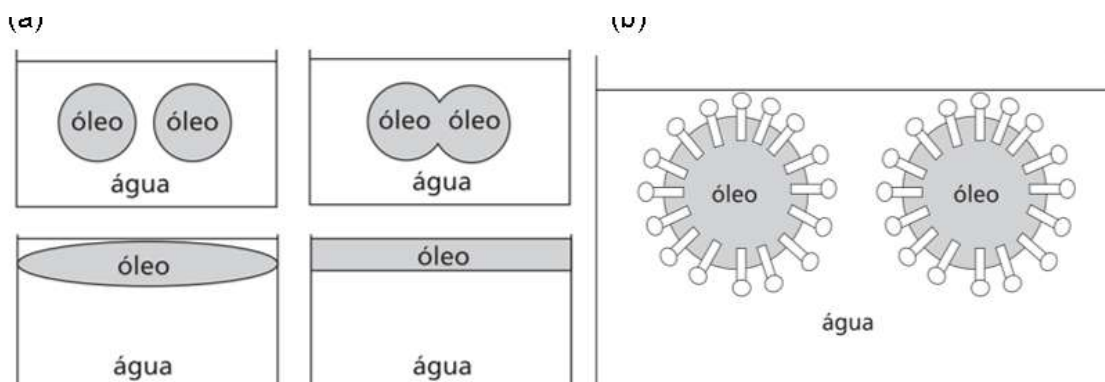


Figura 11 (a) Sequência da coalescência em sistema com duas fases. (b) Efeito da adição de surfactante acima da CMC formando emulsões óleo/água. Adaptado de Daltin (2011)

A propriedade de detergentividade desempenhada por tensoativos é essencial para processos de lavagens com objetivo de retirar sujidades oleosas – sejam tecidos, louças domésticas, ductos condutores, etc. (figura 12). A sujidade permanece sobre o substrato (objeto que se deseja limpar) e ao entrar em contato com solução aquosa de surfactante ocorre efeito semelhante ao da emulsibilidade: os tensoativos tendem a ocupar as regiões de maiores estabilidades, nas superfícies óleo-água e substrato-água. Caso ainda haja micelas em quantidade suficiente, ocorrerá o efeito cunha, isto é, uma tendência de que as sujidades sejam expulsas da superfície para aumentar as áreas de estabilização disponíveis para os surfactantes. Como resultado, há a formação de uma emulsão de sujidade oleosa em água que é carregada com o enxágue (Daltin, 2011).

1.2.2 Classificações dos Surfactantes

Os surfactantes podem ser classificados como sintéticos ou biológicos, a depender de sua rota de obtenção. Os sintéticos são obtidos por rotas químicas a partir de óleos vegetais (como palma e coco) e animais (sebo) e, principalmente, de fontes petroquímicas (benzeno, parafinas e eteno). Usualmente são classificados de acordo com seu grupamento polar, que influencia diretamente em suas propriedades. Os biossurfactantes são produzidos a partir de diversas fontes de carbono por microrganismos, que podem ser bactérias, fungos filamentosos ou leveduras. São categorizados pela sua composição química (baixo e alto peso molecular) e sua origem microbiana (Bain & Company, 2014; Daltin, 2011)

1.2.2.1 Sintéticos

Os surfactantes obtidos por rotas químicas são classificados em função do seu grupamento polar (Figura 13). Os que apresentam nessa porção carga verdadeira negativa são classificados como aniônicos. Devido ao custo relativamente mais baixo, essa classe constitui a maior e mais utilizada pela indústria brasileira. Possuem boas propriedades de limpeza, alto poder espumante, detergência e umectância; fazendo com que sejam muito utilizados em sabões em pó e líquidos para roupa, sabões, xampus e detergentes para limpeza de louças (Bain & Company, 2014). Apresentam alta solubilidade em água e normalmente são sensíveis à água dura, pois os altos teores de sais de cálcio e magnésio que podem neutralizar e precipitar o tensoativo. Suas características físico-químicas são fortemente influenciadas pela presença de eletrólitos em solução (sais solubilizados ou extremos de pH). Os

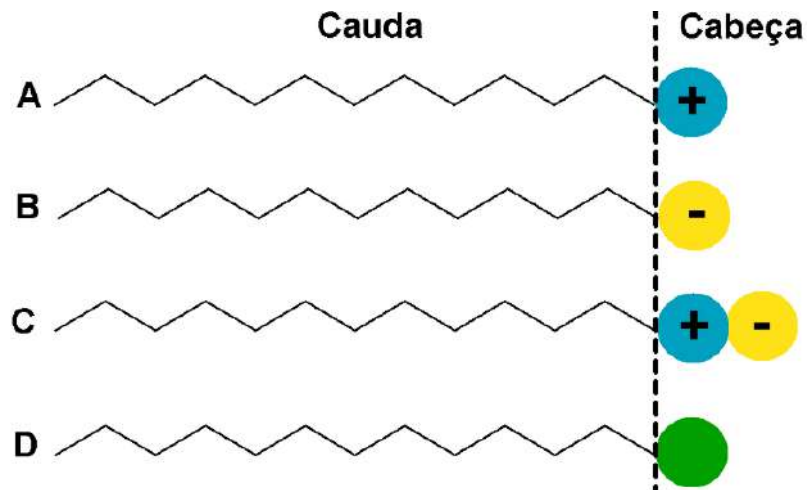


Figura 13 Representação esquemática dos surfactantes catiônicos (A), aniônicos (B), anfóteros (C) e não iônicos (D). A cauda corresponde à porção apolar e a cabeça à porção polar. Retirado de Felipe & Dias (2016).

tensoativos aniônicos são estáveis às variações não extremas pH, com exceção dos sulfatados, que são pouco estáveis em meio ácido (Daltin, 2011).

Os tensoativos que apresentam carga verdadeira positiva em seu grupo hidrofílico são classificados como catiônicos. É caracterizado por apresentar baixo poder detergente, alta capacidade de aderência a superfícies sólidas mesmo após a retirada da solução do tensoativo, a maior toxicidade aquática quando comparada às demais classificações e ser fortemente influenciados pela presença de eletrólitos (Daltin, 2011). Essa classe possui poucos representantes no mercado brasileiro e suas aplicações principais são em limpeza industrial e institucional, amaciante, detergente, condicionadores e cremes de tratamento para cabelo. Também podem ser utilizados em formulações como agentes antiestéticos e antibacteriano; além de serem utilizados como agente anticorrosivo para o aço, coletor de flotação mineral etc (Bain & Company, 2014).

Os tensoativos anfóteros apresentam tanto carga negativa como positiva na mesma molécula e se comportam como aniônicos ou catiônicos dependendo do pH da solução em que se encontram. Em meio alcalino, a alta concentração de hidroxilas neutraliza a carga positiva, fazendo com que se comportem como surfactantes aniônicos – e como catiônicos em meio ácido. Os aniônicos e catiônicos não podem ser misturados em uma mesma solução por causa do risco de se neutralizarem e formarem um composto sem cargas e insolúvel em água que precipita na solução durante sua aplicação. Os anfóteros, por sua vez, são compatíveis com os outros tipos, pois não os neutralizam, já que apresentam carga total nula. São caracterizados

por apresentarem boas propriedades de umectância e penetração, além de serem suaves e apresentarem excelentes propriedades dermatológicas(Daltin, 2011). Constituem a classe de surfactantes menos utilizada no mercado por causa do alto custo e são aplicados principalmente em xampus de baixa irritabilidade ocular e produtos de limpeza (Bain & Company, 2014)

Os tensoativos que não apresentam cargas verdadeiras (ou seja, não originados de sais dissociados), são chamados de tensoativos não iônicos. Suas propriedades incluem: elevada resistência à água dura, são normalmente compatíveis com todas as outras classes de surfactantes, pouca sensibilidade à presença eletrólitos, baixa irritabilidade à pele e olhos e compatibilidade com a maioria das matérias-primas utilizadas em cosméticos, normalmente são fortemente dependentes da temperatura, cujo aumento causa decréscimo da solubilidade – diferentemente dos aniônicos ou catiônicos(Daltin, 2011) Representam a segunda classe mais utilizada no mercado e estão presentes na formulação de detergentes em conjunto com os surfactantes aniônicos (Bain & Company, 2014).

No Brasil, cerca de 60% das vendas de tensoativos se destina à limpeza doméstica, enquanto 10% para os segmentos de higiene pessoal e de cosméticos (Bain & Company, 2014). Com relação ao setor de limpeza, é importante destacar que o baixo poder aquisitivo da população brasileira se traduz em uma baixa diversidade de produtos à disposição dos consumidores, bem como formulações com baixos teores de ativos. Isto deve-se ao fato de os surfactantes mais sofisticados (isto é, com características como menos agressivos à pele, ecologicamente amigáveis, de fontes renováveis ou mais tecnológicos) tenham maiores custos de produção e os consumidores não estarem dispostos a arcar com esse custo adicional (Pachione, 2020). Isso é refletido nos tipos de surfactantes mais empregados: mundialmente, os tensoativos aniônicos respondem por 50% do mercado, os não iônicos correspondem a 40%, e o resto se divide entre catiônicos e anfóteros. Já no Brasil, a participação de aniônicos, que são de custo acessível e cumprem bem seu papel em produtos de limpeza, é um pouco maior e chega a cerca de 60% (Pachione, 2020). As principais rotas de produção de surfactantes aniônicos ainda fazem uso das matérias-primas de origem petroquímica, representando uma grande desvantagem da classe. A tendência mundial é cada vez mais utilizar produtos e matérias-primas com menor impacto ambiental e a busca por formulações mais concentradas e suaves (Pachione, 2020).

1.2.2.2 Biossurfactantes

A estrutura dos biossurfactantes pode variar bastante. De maneira geral, sua porção hidrofílica pode ser constituída de aminoácidos ou peptídeos, ânions ou cátions, mono-, di-, ou polissacarídeos; enquanto sua fração hidrofóbica consiste em ácidos graxos insaturados ou saturados (Santos et al., 2021). Com isso, biossurfactantes podem ser classificados quanto a sua composição química, propriedades físico-químicas, peso molecular, modo de ação e origem microbiana (Rosenberg & Ron, 1999).

Com relação ao peso, os integrantes do grupo de alto peso molecular são as classes de lipopolissacarídeos, lipoproteínas, polissacarídeos anfipáticos, proteínas, entre outros. São caracterizados por formar emulsões de sistemas óleo/água mais estáveis. (Rosenberg & Ron, 1999). Os de baixo peso molecular são mais eficientes na redução das tensões superficiais e interfaciais e incluem ácidos graxos, glicolipídeos, lipopeptídeos cíclicos, lipopeptídeos e fosfolipídeos. (Desai & Banat, 1997; M. S. Rodrigues, 2016).

Dentro do grupo de baixo peso molecular, uma classe de grande destaque são os lipopeptídeos, constituídos por um ácido graxo em combinação com uma porção peptídica. Correspondem a um grupo de isoformas que diferem pela composição da porção peptídica, pelo comprimento da cadeia do ácido graxo e pela ligação entre as duas partes. A propriedade mais interessante desses biossurfactantes é a sua capacidade de induzir a formação de canais em membranas formadas por uma bicamada lipídica, podendo alterar sua permeabilidade e sua integridade (Inès & Dhouha, 2015). Por isso, podem atuar como antibiótico, agente antiviral, antitumoral, imunomoduladores ou como toxina inibidora de enzimas (Cameotra & Makkar, 2004). Alguns exemplos de lipopeptídeos são a gramicidina, polimixina e iturina. Entretanto, seu maior destaque vai para a surfactina, produzida por *Bacillus subtilis* e um dos biossurfactantes mais estudados.

Biossurfactante		Microrganismo
Grupo	Classe	
Glicolipídeos	Raminolipídeos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas sp.</i>
	Trealolipídeos	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Arthrobacter sp.</i> , <i>Nocardia sp.</i> , <i>Corynebacterium sp.</i>
	Soforolipídeos	<i>Torulopsis bambicola</i> , <i>Torulopsis petrophilum</i> , <i>Torulopsis apícola</i>
Ácidos Graxos,	Ácidos Graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>
Fosfolipídeos,	Fosfolipídeos	<i>Penicillium spiculisporum</i>
Lipídeos Neutros	Lipídeos Neutros	<i>Acinetobacter sp.</i>
Lipopeptídeos	Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>
	Peptídeo-lipídeo	<i>Bacillus licheniformis</i>
Biossurfactantes Poliméricos	Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1
	Alasan	<i>Acinetobacter radioresistens</i> KA-53
	Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> A2
	Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
	Manaproteína	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Figura 14 Tipos de biossurfactantes e principais microrganismos produtores. Retirado de Rodrigues (2016).

A classe dos glicolipídeos é a das mais estudadas dentre os biossurfactantes de baixo peso molecular. São constituídos por uma cadeia de ácidos graxos hidrofóbicos ligado a um segmento de carboidratos hidrofílicos - como glicose, manose, ramnose etc. Podem ser sintetizados a partir de hidrocarbonetos, resíduos industriais, óleo residual de oliva e de fritura, dentre outros. Assim como os lipopeptídeos, podem possuir atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica e antimicoplasma, devido à sua capacidade de desestabilizar membranas biológicas ao gerar canais de íons e poros. Além disso, sua propriedade inibitória da bioadesão de

bactérias, somada à capacidade de hidratação, garantem sua utilização na formulação de cosméticos (Thakur et al., 2021).

A associação de diferentes carboidratos e lipídeos geram uma grande diversidade de glicolipídeos, que podem ser subdivididos em monoacilglicerídeo, diglicosil diglicerídeos, lipomananos, lipoarabinomananos, lipomanosil-manitóis, lipossilitirol, celobiolipídeos, trealolipídeos, soforolipídeos e, como o biossurfactantes mais bem estudado, os ramnolipídeos (Thakur et al., 2021).

É importante destacar que os biossurfactantes apresentam grandes vantagens frente aos surfactantes sintéticos. Referente a questões ambientais, uma das principais vantagens dos tensoativos biológicos é a sua biodegradabilidade, visto que os microrganismos conseguem assimilá-los como substrato mais facilmente que os sintéticos (Felipe & Dias, 2017). Como consequência, eles podem ser aplicados para tratamento de resíduos e na biorremediação de solos e águas contaminadas. Podemos destacar também a sua baixa toxicidade: apresenta menor probabilidade de provocar reações alérgicas, tornando os biossurfactantes mais seguros para serem utilizados em cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos (Nitschke & Pastore, 2002). Além disso, também apresentam maior estabilidade em força iônica alta, pois enquanto os surfactantes sintéticos são estáveis entre 2 a 3% (m/v) de sais, os biossurfactantes podem ser estáveis até concentrações salinas de 10% (m/v). Alguns biossurfactantes apresentam ainda elevada estabilidade térmica e de pH, podendo ser aplicados em ambientes de condições mais extremas. Por fim, os biológicos são mais eficientes do que os convencionais (detergentes aniônicos sulfatados) ao apresentar uma maior redução da atividade superficial e interfacial em menores concentrações (Nitschke & Pastore, 2002).

1.3 Ramnolipídeos

1.3.1 Estrutura

Os ramnolipídeos são biossurfactantes classificados como glicolipídeos por possuírem em sua estrutura uma porção glicana e uma porção lipídica, que estão unidas por ligação glicosídica. Ambas as partes podem sofrer variações, resultando em diversos congêneres e homólogos. A porção hidrofílica mais comum é formada por um resíduo de ramnose ou di(L)-ramnose (isto é, dois resíduos de ramnose ligados por uma ligação α -1,2-glicosídica). Já a parte hidrofóbica mais comum é formada por um ou dois resíduos de ácido β -hidroxidecanoico, que se ligam por ligações éster. Com isso podem ser descritas as quatro formas mais comuns dos ramnolipídeos, abreviadas como Rha-Rha-C₁₀-C₁₀, Rha-Rha-C₁₀, Rha-C₁₀-C₁₀ e Rha-C₁₀ (RL3, RL4, RL1, RL2) (Figura 15). O desenvolvimento de técnicas analíticas mais sensíveis levou à descoberta de uma ampla diversidade de congêneres e homólogos de ramnolipídios que vão muito além desses quatro. Na verdade, são cerca de 60 formas produzidas em diferentes concentrações por várias espécies de *Pseudomonas* e por bactérias pertencentes a outras famílias, classes ou mesmo filos (Abdel-mawgoud et al., 2010).

Diante de tamanha diversidade, Abdel-mawgoud (2010) descreve ramnolipídeos da seguinte forma: glicosídeos compostos de porções de ramnose (parte glicana) e porções lipídicas (partes aglicanas) ligadas entre si por meio de uma ligação O-glicosídica. A parte hidrofílica (glicana) é formada por um resíduo de ramnose ou de di(L)-ramnose, que estão ligadas entre si através de uma ligação α -1,2-glicosídica. A parte hidrofóbica (aglicana) é formada por um ou dois (ocasionalmente três) cadeias de ácidos graxos que podem ser saturados, mono ou poliinsaturados e de comprimento de cadeia variando de 8 a 16 carbonos. A ligação entre os ácidos ocorre por uma ligação éster formada entre o grupo β -hidroxila da cadeia distal (em relação à ligação glicosídica) com o grupo carboxila da cadeia proximal. Alguns poucos congêneres apresentam outras variações: na parte lipídica, o grupo carboxila da cadeia distal de ácido graxo β -hidroxi pode ser esterificado com um grupo alquil curto; na parte hidrofílica, o grupo 2-hidroxila do grupo ramnose distal (em relação à ligação glicosídica) pode ser acilado com ácido alquenóico de cadeia longa.

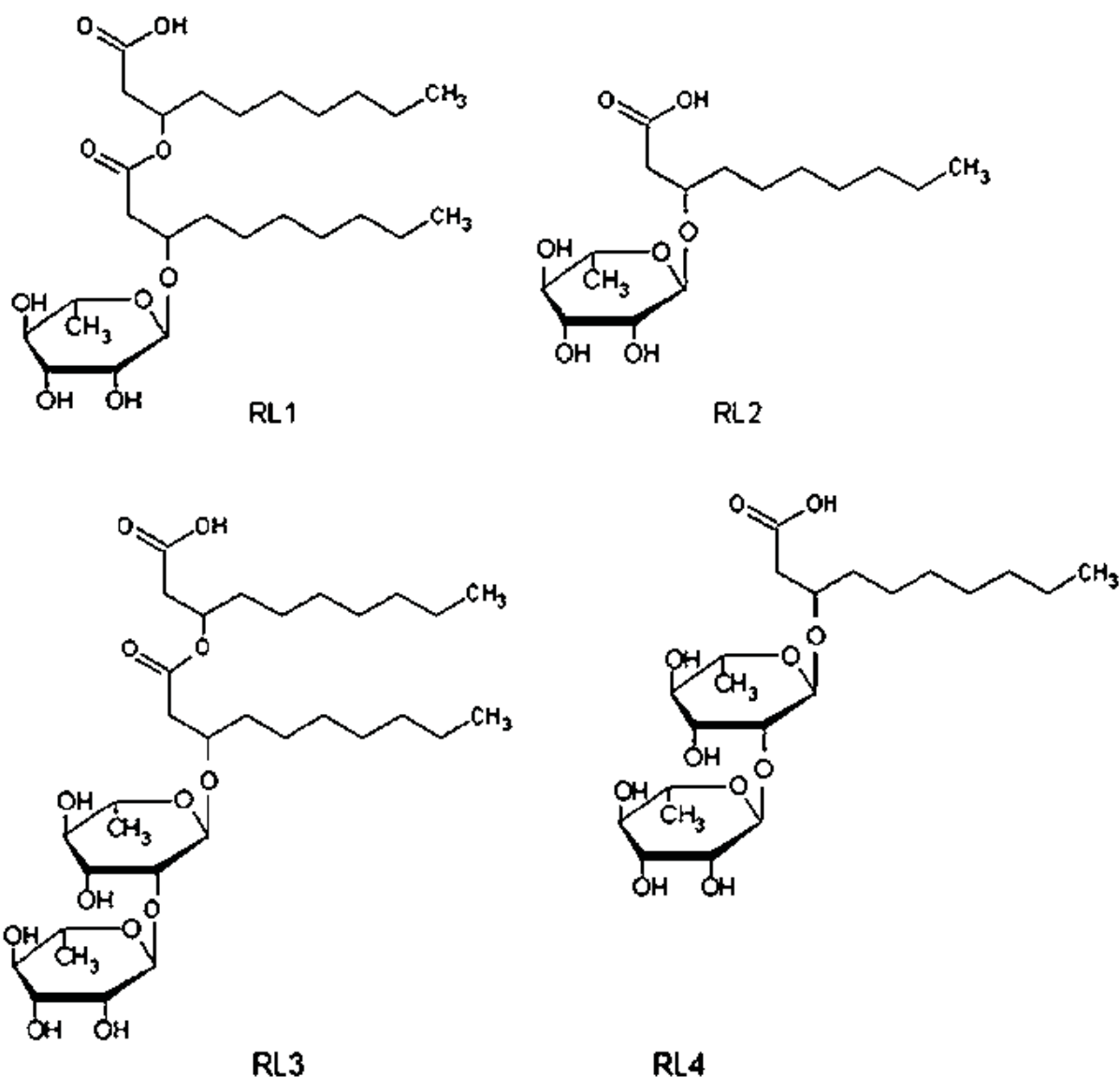


Figura 15 Principais formas de ramnolipídeos. Retirado de Rikalovic (2015)

Naturalmente, o rendimento e a distribuição entre os diferentes homólogos presentes (Rikalović et al., 2015) no produto ramnolipídico obtido pode variar em função dos microrganismos escolhidos como produtores. Os principais produtores pertencem ao gênero *Pseudomonas*, bactérias Gram-negativas, pertencem à classe Y-proteobacteria. A principal espécie é a *Pseudomonas aeruginosa*, mas também há registro na literatura de produção a partir de outras espécies: *P. alcaligenes* (Oliveira et al., 2009), *P. cepacia*, *P. fluorescens*, *P. luteola*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. teessidea* (Onbasli & Aslim, 2009), *P. chlororaphis* (Gunther et al., 2006) *P. clemancea* e *P. colliereae* (Dusane et al., 2010) e também para outros gêneros, como *Acinetobacter*, *Pantoea*, *Enterobacter* (Rooney et al., 2009), *Pseudoxanthomonas* (Astuti et al., 2019) e *Burkholderia* (Andrä et al., 2006).

Além da variedade de microrganismos a serem escolhidos, é possível fazer essa produção a partir de diversas fontes de carbono como glicerol, manitol, frutose, glicose, sacarose, n-parafinas, n-alcanos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e óleos vegetais (Desai & Banat, 1997) e ainda diversas fontes de nitrogênio, como extrato de levedura, peptona, extrato de carne, farinha de soja, nitrato de sódio, sulfato de amônia, cloreto de amônia e nitrato de amônia (Santos et al., 2002). As escolhas desses e outros fatores nutricionais, bem como ambientais (pH, temperatura, idade da cultura etc), irão impactar no rendimento e homólogos preferencialmente produzidos (Santos et al., 2002). É importante destacar que a variação nas estruturas de ramnolipídeos obtidos ao fim do processo gerando preferencialmente determinados homólogos vai impactar também nas propriedades tensoativas do produto e, conseqüentemente, suas aplicações preferencias. Dessa maneira, a linhagem de microrganismo, os nutrientes e condições de processo devem ser escolhidos levando em conta o produto final que se pretende obter.

Já é confirmado que os dois grupos principais de ramnolipídeos produzidos por *P. aeruginosa* em cultivos em submerso são o monoramnolipídeo RL1 e o diramnolipídeo RL3 (Mata-Sandoval et al., 2001; Soberón-Chávez et al., 2005). Por isso, na prática, usualmente analisa-se a quantidade relativa dessas duas formas a fim de prever as propriedades do produto final.

Outro aspecto interessante relaciona à estrutura dos ramnolipídeos é que possuem comportamento diferencial em função do pH – isso ocorre devido à protonação dos íons carboxilato. Em soluções ácidas se comportam como um surfactante não-iônico enquanto em soluções neutras ou levemente alcalinas, o adquire um comportamento aniônico (J. R. Sousa et al., 2014).

1.3.2 Propriedades

Existem diferentes características de um biotensoativo que irão ditar suas propriedades e aplicações ou servir como parâmetros de qualidade. Um dos principais é a concentração micelar crítica (CMC), definida como a máxima concentração de surfactante a partir da qual inicia-se a formação de micelas. Quanto menor é o valor de CMC, maior a eficiência do biosurfactante em reduzir a tensão superficial – pois é necessária menor concentração de surfactante para atingir o valor mínimo de tensão (Monteiro, 2007). Os valores de CMC dos ramnolipídeos podem variar entre 10 e 200

mg L⁻¹ a depender dos diversos parâmetros já discutidos. São capazes de reduzir a tensão superficial da água de 72 mN m⁻¹ para menos de 30 mN m⁻¹ e a tensão interfacial água/óleo de 43 mN m⁻¹ a valores abaixo de 1 mN m⁻¹ (Christofi & Ivshina, 2016; Monteiro, 2007).

Outra propriedade é o equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL), que expressa a solubilidade do biossurfactante em água ou óleo. É calculado a partir do peso do grupo hidrofílico e hidrofóbico em uma molécula e varia de 0 a 20, onde as moléculas com alto EHL são mais solúveis em água enquanto as de baixo são mais lipofílicas (Christofi & Ivshina, 2016). As formas mais comuns RL3 e RL1 possuem EHL de 10,1 e 6,5; respectivamente (Duarte, 2018). De acordo com a figura 16, é possível perceber que a aplicabilidade preferencial de cada um congênere de ramnolipídeos isolado é diferente, sendo importante para determinados segmentos a produção de apenas um congênere principal em detrimento de outro.

Outra propriedade muito importante dos ramnolipídeos é a atividade antimicrobiana contra diferentes microrganismos, que pode ocorrer por diferentes mecanismos (inibição do crescimento, da esporulação, do crescimento do micélio, do crescimento das hifas, lise dos zoósporos etc). Sotirova (2008) propôs que os efeitos antimicrobianos dos ramnolipídeos fossem causados pela sua intercalação na membrana celular, resultando em aumento da permeabilidade e subsequente morte celular. Outro mecanismo importante pelo qual os ramnolipídeos são eficientes contra microrganismos é atacando o biofilme. A formação de novos biofilmes é inibida pela modificação da hidrofobicidade das superfícies e interferência nas propriedades adesivas do microrganismo. O rompimento de biofilmes já existentes também ocorre, sendo causado pela alteração do ambiente do biofilme e pela remoção de substâncias poliméricas extracelulares (Paulino et al., 2016). De acordo com o Vatsa (2010), a literatura reporta atividade contra, ao menos, 23 espécies (ou gêneros) de fungos, 10 de bactérias gram-negativas, 7 bactérias gram-positivas, além de alga, ameba e vírus; quase a totalidade dos ramnolipídeos produzidos a partir de *Pseudomonas aeruginosa*.

Faixa de HLB	Uso
4-6	Emulsificante Água/Óleo
7-9	Agente molhante
8-18	Emulsificante Óleo/Água
13-15	Detergentes
15-18	Solubilizantes

Figura 16 Valores de agentes tensoativos e suas aplicações. Retirado de Duarte (2018).

1.3.3 Aplicações

1.3.3.1 Saúde

Os ramnolipídeos possuem ampla aplicações em potencial em diferentes áreas da saúde. Christova (2013) demonstrou que diferentes podem ramnolipídeos possuir efeito antitumoral contra diversas linhagens celulares cancerígenas humanas: HL-60, SKW-3, BV-173, JMSU-1; a partir de diferentes mecanismos. Rahimi (2019) também demonstrou a aplicabilidade do biosurfactante contra a linhagem celular humana de câncer de mama MCF-7, conferindo ao biotensoativo potencial como agente terapêutico antitumoral. Em ambos os estudos foram utilizados os congêneres Rha-C₁₀-C₁₀ e Rha-Rha-C₁₀-C₁₀ de ramnolipídeos isolados e os resultados encontrados favoreceram o monoramnolipídeo. Isso ressalta, novamente, a importância de alinhar a escolha do microrganismo produtor e demais variáveis com a aplicação a qual o produto se destina.

Ainda na área da biomedicina, os ramnolipídeos demonstram muitos outros potenciais de aplicação. Vários estudos recentes focaram no seu papel como imunomoduladores: ativam as células imunes causando a secreção de citocinas pró-inflamatórias, apresentando grande efeito na modulação do sistema imunológico humoral e celular (Andrä et al., 2006; McClure & Schiller, 1992).

Stipcevic et al. (2006) aplicou o biosurfactante para melhorar a cicatrização de queimaduras onde os di-ramnolipídeos, caracterizados pela sua baixa toxicidade, demonstraram diferentes utilidades. Foram capazes de inibir a atividade dos

fibroblastos e, como consequência, diminuíram o conteúdo de colágeno na ferida e geraram uma menor formação de cicatriz. Esse estudo também apontou o potencial do biossurfactante ajudar na aceleração da cicatrização normal de feridas. O mesmo grupo de estudo ainda explorou outras aplicações: tratamento de úlceras causadas pela estimulação da medula óssea e infecções causadas por psoríase (Tiso et al., 2017). Também já foram aplicados para tratar infecções por tuberculose (Irfan-Maqsood & Seddiq-Shams, 2014). Na pele humana, demonstraram induzir a produção de psoriasina, uma proteína antimicrobiana (Meyer-Hoffert et al., 2011). Com grande possibilidade de aplicação na área da saúde, uma que merece destaque é a sua aplicação já bem sucedida na produção de microemulsões para liberação de drogas (Nguyen et al., 2010), capacidade que também é muito útil para a indústria de cosméticos.

1.3.3.2 Agroindústria

O apodrecimento de frutas e vegetais após sua colheita, causado por fungos patógenos, afeta a produção mundial de alimentos em 5 a 10% (Rodrigues et al., 2017). Para evitar isso são utilizados fungicidas químicos, que apresentam algumas consequências como toxicidade, poluição das águas subterrâneas, ameaças à saúde humana, intervalo de degradação prolongado e desenvolvimento de cepas resistentes (G. Liu et al., 2015; Thakur et al., 2021). Nesse contexto, os ramnolipídios são uma alternativa favorável aos fungicidas químicos: também apresentam atividade antifúngica, possuem vantagens ecológicas, inibem os fungos resistentes aos fungicidas químicos e estimulam a imunidade nas plantas contra os patógenos. Como um bom exemplo, podemos citar o produto Zonix fungicide comercializado pela Jeneil Biotech Co. (Saukville, USA), que são efetivos contra doença causada por *Fusarium oxysporum* em plantações de tomate e ainda inibem patógenos de plantas formadores de zoósporos que adquiriram resistência aos pesticidas químicos comerciais (Müller et al. 2012; Deepika et al. 2015; Sachdev & Cameotra 2013).

Além disso, ramnolipídeos também podem ser úteis no setor agroindustrial ao por sua atividade inseticida – por exemplo contra *Myzus persicae* (o pulgão verde do pêssego) (Kim et al. 2011). Também são úteis contra serem usados contra micróbios: podem ser utilizados diretamente para prevenir sua adesão às raízes (Haba et al. 2003) ou ainda estimulando o sistema imunológico das plantas contra estes (Vatsa et

al. 2010; Sanchez et al. 2012). Isso ocorre quando são usados como agentes de iniciação, isto é, são aplicados nas sementes antes do plantio e a planta subsequente, mesmo sem a presença do ramnolipídeo, desenvolve respostas imunes contra certos patógenos. Silva et al. (2015) mostraram esse fenômeno ao analisar o efeito do biossurfactante na taxa de germinação de alface e milho e aumento no desenvolvimento de plântulas apresentado pela soja. Apesar de esse mecanismo ainda precisar ser elucidado, Liu et al. (2016) apresenta uma possível explicação: os ramnolipídios são mais eficazes que surfactantes químicos em melhorar a molhabilidade foliar e penetração de moléculas solúveis e outras propriedades de superfície.

As propriedades de superfície proporcionadas pelo ramnolipídeo por si só já são de grande interesse para a agroindústria. Conforme discutido na seção de aplicação na agroindústria, muitos surfactantes também são usados na formulação de herbicidas como adjuvantes por tais propriedades. Além dos produtos antifúngicos, a Jeneil Biotech Co. possui em seu catálogo produtos à base de ramnolipídeos que atuam como adjuvante focado em melhorar o rendimento das colheitas, aumentar a biodisponibilidade de nutrientes do solo e promover sistemas radiculares saudáveis e a auxiliar na saúde geral das plantas (Jeneil Biosurfactant Company, 2022).

1.3.3.3 Limpeza Doméstica

Os detergentes de limpeza doméstica mais comuns são a base do surfactante sintético Linear Alquil Benzeno Sulfonato de Sódio (LAS), que é produzido exclusivamente de derivados de petróleo como benzeno e parafina linear. Além dessa desvantagem, é de difícil biodegradabilidade, podendo ficar acumulado nas águas residuárias gerando uma série de malefícios como formação de espuma e inibição dos microrganismos responsáveis pelos processos de depuração natural (Helmy et al., 2020).

Conforme já mencionado, o setor de limpeza doméstica no Brasil é responsável por 60% das vendas de tensoativos, sendo muito relevante que os produtos desse setor passem a utilizar surfactantes amigáveis ao meio ambiente. Nesse contexto, as principais vantagens dos ramnolipídeos sobre os detergentes químicos sintéticos são sua baixa ecotoxicidade e sua biodegradabilidade, responsáveis por diminuir seu impacto no meio ambiente (Tiso et al., 2016).

Seu potencial como produtos de limpeza domésticos para roupa já foi demonstrado: estudos como os apresentados por Bafghi & Fazaelpoor (2012) e Helmy et al. (2020) atestaram sua capacidade de substituição dos tensoativos sintéticos nessas formulações. Além disso, os ramnolipídeos já estão presentes no mercado em detergentes domésticos para lavagem de louça nas marcas Quix, presente no Chile, e na Sunlight, no Vietnã – ambas fazem parte do portfólio da Unilever.

1.3.3.4 Cosméticos

A aplicação dos surfactantes no setor cosmético pode ser dada pela necessidade de diferentes efeitos em sua formulação, como detergência, umectação, emulsificação, solubilização, dispersão, formação de espuma. A vantagem da utilização de biosurfactantes deve-se, além das questões ambientais, à sua baixa toxicidade e alta compatibilidade com a pele. Os ramnolipídeos se destacam no setor por possuírem, além de atividade antimicrobiana interessante em determinados casos, uma alta capacidade emulsificante, propriedade essencial para que os produtos atinjam uma textura consistente e adequada (Lourith & Kanlayavattanakul, 2009).

Os ramnolipídeos já foram aplicados como aditivos de produtos cosméticos e de saúde em variados produtos diferentes, como repelentes de insetos, antiácidos, almofadas para acne, produtos anticaspa, soluções para lentes de contato, desodorantes, produtos para unhas e cremes dentais, produtos antirrugas e antienvhecimento (Lourith & Kanlayavattanakul, 2009)

1.3.3.5 Biorremediação

Uma das aplicações mais estudadas do ramnolipídeo é na biorremediação de hidrocarbonetos – devido, também, à sua biodegradabilidade. Isto deve-se, além da sua propriedade emulsificante, ao fato de que essa aplicação exige baixos requisitos de pureza, de maneira que os custos de produção permanecem baixos.

Um dos mecanismos viáveis para a biorremediação de hidrocarbonetos utilizando ramnolipídeos é a sua degradação. Um dos mecanismos relatados é o aumento da biodisponibilidade dos hidrocarbonetos para a degradação pela

população bacteriana nativa – o que ocorre devido à formação de emulsões formadas pelo ramnolípídeo (Desai e Banat 1997). Outro efeito pode ser a interação do biotensoativo com a superfície da célula, tornando-a mais hidrofóbica e fazendo com que se associem mais facilmente com os hidrocarbonetos (Maier e Soberon-Chavez 2000). A aplicação de ramnolípídeos para degradação de hidrocarbonetos já foi mostrada para hexadecano, pristina, tetradecano, creosoto e misturas de hidrocarbonetos (Maier e Soberon-Chavez 2000).

Outro mecanismo de biorremediação que é auxiliado pelo ramnolípídeo é a lavagem: acima da CMC, compostos hidrofóbicos podem se difundir para o centro das micelas (Paulino et al. 2016), que podem então ser lavadas com mais facilidade. Estudos já relataram a utilização de ramnolípídeos para a remoção de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (Scheibenbogen et al. 1994), poli-aromáticos e pentaclorofenol (Sachdev e Cameotra 2013), hexadecano, octadecano, fenantreno, pireno, bifenilos policlorados, uma variedade de PAH, misturas de hidrocarbonetos (Maier e Soberon-Chavez 2000) e ainda de petróleo bruto (Lang e Wullbrandt 1999). Vale destacar o derramamento de óleo do navio petroleiro Exxon Valdez, em 1989, no mar do Alasca, onde ramnolípídeo foi utilizado como agente de biorremediação *in situ* em grande escala – e a lavagem foi bem-sucedida (Harvey et al. 1990; Bragg et al. 1994).

1.4 Análise Econômica Preliminar

A análise econômica preliminar é uma metodologia considerada simples, rápida e de baixo custo, demandando apenas as informações mais fundamentais dos processos estudados. É um recurso recomendado para tecnologias que estão na iminência de serem implementadas e ainda não estão estabelecidas em escala industrial. É possível estimarmos balanços de massa, energia, dimensionamento dos equipamentos de forma aproximada, impacto de emissões e análise de custo. Assim, como resultado, é feita a análise dos pontos críticos dos processos estudados e a viabilidade da sua implementação. Por fim, a partir desse design preliminar é possível decidir se uma análise mais aprofundada deve ou não ser executada (Magalhães, 2019).

O principal parâmetro para essa análise é o custo fixo de equipamentos, a partir do qual são calculados os custos fixos de investimento (CFI) e os custos variáveis de operação. O CFI pode ser calculado multiplicando o custo dos equipamentos

principais por fatores multiplicadores LF (Lang factors), gerando acurácia na análise de viabilidade do processo de 35%.

Outro parâmetro importante são os custos operacionais. Dentro destes, está embutido o custo com utilidade, inclui água de processo, eletricidade, vapor, consumíveis e água de resfriamento e pode ser obtido após a simulação do processo. Além deste, também está incluso o há o custo de manufatura, calculado a partir do custo de matéria-prima, utilidades, mão-de-obra e fixo de investimento; conforme na Figura 17. Todos os equacionamentos utilizados e seus significados serão melhor abordados na metodologia.

Após obtenção dos custos de operação e investimento fixo, é possível fazer a análise econômica do projeto. Para isso é calculado o fluxo de caixa ao longo dos anos do projeto, considerando de maneira adequada a receita, depreciação, impostos e valor presente. Com esses dados, é possível calcular parâmetros importantes como valor presente líquido (VPL), taxa interna de retorno (TIR), *payback time* (PBT), *payback time* descontado (PBTD) e preço mínimo de venda (MSP); que serão melhor abordados nos resultados.

1.4.1 Análise de Mercado e Demanda

. Uma importante parte da análise econômica preliminar é a análise de mercado, pois através dela é possível estabelecer dois parâmetros importantes para esse estudo: o preço de venda esperado e a capacidade produtiva da planta (Magalhães, 2019). O mercado de surfactantes (sintéticos e biológicos) foi avaliado em UD\$ 36 bilhões em 2020 (Mordor Intelligence, 2022b), enquanto o de biosurfactantes foi avaliado em apenas UD\$ 2,4 bilhões ao final de 2020 (Mordor Intelligence, 2022); cerca de 7%. A taxa de crescimento anual composta (CAGR) apresentadas foram, respectivamente, 4% e 5,5% (período de 2022-2027). O mesmo levantamento de mercado apresentado pela Fortune Business Insights (2021b) revela que o mercado de surfactantes foi avaliado em UD\$ 39,42 bilhões e o de biosurfactantes em UD\$ 3,6 bilhões no ano de 2020 (Fortune Business Insights, 2021a), cerca de 9%. As CAGR apresentadas foram, respectivamente, 4,9% e 5,4% (2021-2028).



Figura 17 Fluxograma de informações necessárias para a análise econômica e suas plataformas de obtenção. Fonte: Magalhães (2019).

Em massa produzida, os biossurfactantes representaram apenas 2% dos tensoativos produzidos em 2017 – e desse grupo, os ramnolipídeos correspondiam a 8% do valor de mercado (Biooekonomie.de, 2017). A expectativa para o ano de 2023 era uma produção de 524 mil toneladas de biossurfactantes (Felipe & Dias, 2017). Com base nisso, podemos estimar uma produção de ramnolipídeos na ordem de 40mil toneladas de ramnolipídeos para o ano de 2023. Dessa maneira, a planta apresentada nesse trabalho foi projetada para produzir quantidade próxima a 400 t/ano, isto é, aproximadamente 1% da produção mundial do glicolipídeo.

É importante destacar que essas perspectivas mercadológicas são afetadas por diversos fatores. Um dos que podemos destacar é a pandemia de COVID-19. Por um lado, a pandemia levou ao fechamento de unidades de fabricação de alimentos, produtos químicos, agrícolas e lubrificantes e afetou os meios de transporte. Isso gerou um impacto negativo nesses mercados ao interferir nas suas cadeias produtivas e causar uma queda na sua demanda (Mordor Intelligence, 2022a). Por outro lado, foi responsável por aumentar a procura por detergentes, desinfetantes e outros produtos de limpeza de maneira geral devido à maior importância dada às boas práticas de higiene – contribuindo positivamente para a perspectiva futura desses segmentos, nos quais surfactantes sintéticos, biossurfactantes e os ramnolipídeos estão relacionados (Mordor Intelligence, 2022a).

No mercado de limpeza doméstica, o segmento detergentes de roupas foi avaliado em UD\$62 bilhões em 2020, com expectativa de atingir UD\$103 bilhões em 2028 (CAGR de 6,7%) (Research Dive Analysis, 2021). Apesar da falta de produtos de limpeza de roupas a base de ramnolipídeos no mercado, vale destacar que

grandes players do setor, como a Unilever, já possuem patentes com formulações contendo ramnolipídeos (Unilever PLC, 2012). Dessa maneira, não será surpresa que em curto prazo biossurfactantes ramnolipídicos estejam presentes também nesse segmento. Ainda no setor de limpeza doméstica, o segmento de detergentes lava-louça já conta com a participação dos ramnolipídeos de maneira mais estabelecida.

O mercado de detergentes para lava-louça tem expectativa de atingir USD 19.27 bilhões ao final de 2022 e USD 31.26 bilhões em 2028, apresentando um CAGR de 8,2% (G. V. Research, 2022). O maior mercado é o estadunidense, atingindo UD\$ 2,8 bilhões em 2021, seguido por China (USD 2.25 bilhões), Japão (USD 1.22 bilhões), Alemanha (USD 935 milhões) e Índia (USD 876 milhões) (Intelligence, 2022a). Vale destacar os eventos recentes responsáveis por garantir que os ramnolipídeos estivessem inseridos dentro desse segmento e embarcassem nessa onda de crescimento: Em dezembro de 2019, a Unilever, em parceria com a Evonik, introduziu um detergente lava-louças no mercado Chileno, a marca Quix, cuja formulação contém ramnolipídeos. Esta foi a primeira vez que em que o biotensoativo foi utilizado em algum produto de limpeza doméstica. Em seguida, a Unilever introduziu o ramnolipídeos no mercado do Vietna através do lava-louça da marca Sunlight. Após esse segundo caso de sucesso, declarou desejo de implementar esse produto em seu portfólio global. Para isso, ainda em parceria com a Evonik, anunciou a criação de uma unidade de produção em sua fábrica na Eslováquia - a primeira planta em escala industrial do mundo a produzir ramnolipídeos (Evonik Industries, 2022).

Evonik é um importante player do mercado de biossurfactantes: produz e comercializa ramnolipídeos e sofrólipídeos, que podem ser utilizados em aplicações de personal care, limpeza doméstica e industriais. Ao lado da BASF SE, Ecover, Jeneil e Givaudan, formam o grupo de 5 players responsáveis por 80% da participação do mercado de biossurfactantes, já considerado consolidado (Mordor Intelligence, 2022a). O mercado de ramnolipídeos, por outro lado, é dito parcialmente consolidado, com apenas alguns dominando o cenário. Os principais são Evonik Industries AG, Jeneil, GlycoSurf LLC, AGAE Technologies LLC e Biotensidon GmbH (Mordor Intelligence, 2022c).

Além do segmento de limpeza, muitos outros segmentos que se utilizam do ramnolipídeos são apontados como precursores da perspectiva positiva de crescimento de mercado do biotensoativo. Um dos principais é a demanda por

produtos de *personal care*, onde os ramnolipídios são usados principalmente na dispersão de pigmentos de cor em batons e produtos de maquiagem, além de ajudar a dispersar perfumes em loções pós-barba, água de colônia, loções capilares e cremes de barbear. A demanda desses produtos aumentará e, assim, contribuirão para o crescimento do mercado global de ramnolipídeos (Technavio, 2022). Vale destacar que as demandas por ramnolipídeos crescem de maneira diferencial em cada região. Estima-se que 39% do crescimento do mercado terá origem na Europa, com liderança de Alemanha e Reino Unido, pois a preferência do consumidor por detergentes líquidos de base biológica em relação a detergentes em pó sintéticos impulsionará o crescimento do mercado nesses países (Technavio, 2022).

Por outro lado, podemos destacar que o crescimento da demanda na China e Índia deve-se ao seu crescimento populacional e consequente importância da fertilidade de seus solos para produção de alimentos, sendo os ramnolipídeos aplicados na agricultura (M. M. Research, 2020). Esses dois países, juntos ao Japão, também apresentam perspectiva de crescimento na demanda de ramnolipídeos no setor de petróleo e gás. Isso torna a região Ásia-Pacífico a maior produtora e consumidora de ramnolipídeos, com destaque para a China enquanto consumidora (Mordor Intelligence, 2022c).

Com isso, é possível notar que a perspectiva do mercado de ramnolipídeos é fruto de uma soma de fatores que contribuem positiva ou negativamente para seu crescimento. É importante destacar que a demanda de ramnolipídeos cresce impulsionada por determinados setores da indústria em detrimento de outros a partir do país ou região geográfica analisada e as especificidades de seus mercados. No saldo final, a crescente demanda em diferentes mercados configura um cenário positivo de crescimento acelerado nos próximos anos – tornando a análise técnico-econômica preliminar desse bioproduto de considerável relevância.

1.4.2 Precificação

Mesmo diante da boa perspectiva de crescimento dos biossurfactantes, o setor ainda possui representação pequena no mercado dos tensoativos, relacionada principalmente ao seu alto custo de produção. Lang & Wullbrandt (1999) estimaram, já considerando a inflação até 2022, o custo de produção de surfactantes tradicionais em torno de 2 – 5,5 UD\$/kg. Os ramnolipídeos, considerando uma produção na escala

de 20 a 100 m³, teria custo de 36 – 45 UD\$/kg. Argumentaram, portanto, que sua produção seria viável apenas para aplicações que não competissem com os surfactantes tradicionais, como antipatógenos, e inviável para fins de limpeza – perspectiva que já em desacordo com a realidade atual, visto que os ramnolipídeos já estão presentes em produtos de limpeza.

Com base nesses valores, uma boa estimativa para o preço de venda de ramnolipídeos em 2022 seria na faixa de 90 - 110 UD\$/kg, aproximadamente o dobro do custo de produção. Vale destacar que os fornecedores atuais vendem ramnolipídeos a preços muito variados: ramnolipídios com 90% de pureza pela custam 800 UD\$/kg e com 50-55% UD\$/kg custam 387 UD\$/kg pela empresa NatSurfact (NATSURFACT, 2019); enquanto pela Guangzhou Qianyi Fine Chemicals Co, sem pureza definida, custam 34 – 58 UD\$/kg (Guangzhou Qianyi Fine Chemicals Co., Ltd) e 650 - 800 UD\$/kg pela Wuhan Rison Trading Co., Ltd ; com pureza 90%) (WWW.ALIBABA.COM, 2019). O produto mais próximo ao apresentado nesse trabalho é o de 50-55%, de maneira que o preço de 387 UD\$/kg é uma boa base de comparação.

É importante destacar que muitas vezes o alto custo de produção dos biossurfactantes são altos devido aos processos de *downstream*, que podem chegar até 60% do custo. Os ramnolipídeos são tradicionalmente purificados por processos de precipitação ácida seguida da extração em misturas de clorofórmio e metanol (Desai & Banat, 1997). Um processo de purificação alternativa que se destaca por ser econômico e menos danoso aos operadores por não usar solventes orgânicos é apresentado por Lohitharn & Derr (2016), que foi adaptado e utilizado como base para a elaboração dos processos de purificação apresentados neste trabalho.

A primeira etapa é a centrifugação do meio de cultivo e descarte da biomassa. Em seguida, o sobrenadante passa por processo de esterilização, seguida da separação sólido/líquido. A solução de ramnolipídeo recebe adição de ácido sulfúrico 95-98% até o do caldo clarificado estar com pH em 2.1. A mistura resultante vai para centrífuga, onde ocorre separação da fase aquosa do sólido rico em ramnolipídeo. Este é tratado com hidróxido de sódio até que o pH atinja cerca de 7.0, no qual o produto se liquefaz. A etapa final é centrifugar a solução ramnolipídica resultante e remover o pellet formado a partir de quaisquer sólidos remanescentes. O produto líquido final é 50-60% de ramnolipídios.

1.5 Objetivo

Considerando todo o exposto, esse trabalho teve como objetivo contribuir para a viabilização da produção e comercialização em escala industrial dos ramnolipídeos por *Pseudomonas aeruginosa* executando a análise técnico-econômica preliminar da produção utilizando como matéria-prima glicerina bruta.

1.5.1 Objetivos Específicos

- Realizar cultivos em frascos agitados comparando a utilização de glicerina comercial e bruta como matéria-prima.
- Realizar cultivos em biorreatores de bancada com 30g/L e 45 g/L iniciais de glicerol e obter os parâmetros de produção convenientes.
- Obter na literatura dados das etapas de purificação, precificação e demanda.
- Utilizar os dados gerados e obtidos para uma análise técnico-econômica preliminar.
- Obter o preço mínimo de venda e analisar a viabilidade do processo nos dois casos.

Capítulo II - Metodologia

2.1 Cultivos

2.1.1 Microrganismo

A produção de ramnolipídeos foi feita utilizando a cepa LFM634 da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* obtida do Coleção Laboratorial de Bioprodutos (tel: +55 11 3091-7352) (Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo). Os *slants* contendo os microrganismos foi mantido a -80 °C. Um estoque padronizado de *slants* foi feito para a utilização para todos os experimentos a partir de um meio rico contendo a seguinte composição: NaNO₃ (1.0 g/L), MgSO₄.7H₂O (0.2 g/L), K₂HPO₄ (7.0 g/L), KH₂PO₄ (3.0 g/L), Peptona (5.0 g/L), Extrato de Levedura (5.0 g/L), Glicerol (30 g/L). Os frascos foram agitados a 200 RPM e 30°C durante 40 horas de cultivo seu conteúdo reservado em *slants* de 1.6 mL com crioprotetor glicerol (20%).

2.1.2 Pré-inóculo

Para o preparo do pré-inóculo, o conteúdo do *slant* foi adicionado a Erlenmeyer de 1L contendo 300mL de meio de cultivo com a seguinte composição (meio de crescimento): NaNO₃ (1.0 g/L), MgSO₄.7H₂O (0.2 g/L), K₂HPO₄ (7.0 g/L), KH₂PO₄ (3.0 g/L), Peptona (5.0 g/L), Extrato de Levedura (5.0 g/L), Glicerol (30 g/L) (Santos et al., 2016). Os frascos foram incubados a 30°C e 200 RPM aproximadamente 40 horas. Foram utilizados glicerol comercial (99%) ou glicerina bruta (74%), com as concentrações de glicerol normalizadas de acordo com o experimento. A glicerina bruta foi obtida na produção de biodiesel e coletada na Usina de Biodiesel de Montes Carlos e cedida pela Petrobras. Após 40 horas de cultivo, o meio rico em células servia de pré-inóculo para a produção de ramnolipídeos. Todos os meios de cultivos, desta etapa e das posteriores, foram esterilizados em autoclave por pelo menos 15 minutos em pressão 1 bar.

2.1.3 Cultivo em Frasco para comparação entre glicerina bruta e glicerina comercial

Trinta mililitros de meio rico em células foi adicionado a frascos de 1L contendo 270 mL de meio próprio para produção de ramnolipídeo com a seguinte composição (meio mínimo): NaNO_3 (5.54 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.2 g/L), K_2HPO_4 (7.0 g/L), KH_2PO_4 (3.0 g/L), Extrato de Levedura (2 g/L), Glicerol (30 g/L) (Soares dos Santos et al., 2016). O cultivo seguiu até observado o consumo quase total do substrato. Os cultivos foram executados em triplicata e a análise estatística foi feita com o Teste Z no Excel, considerando diferença de até 5%.

2.1.4 Cultivo em Biorreator utilizando Glicerina Bruta

A produção de ramnolipídeos pela cepa LFM634 ocorreu em biorreator (New Brunswick Science) BioFlo® & Celligen 310® de volume nominal 8L, utilizando 4L de meio de mínimo, inoculado com 10% v/v de pré-inóculo. A temperatura foi mantida a 30 °C, a agitação mecânica por pás agitadas em 600 RPM, a aeração superficial com ar comprimido em vazão 3L/min, resultando em coeficiente de transferência de oxigênio (k_{La}) inicial igual a 1.7h^{-1} . Estas condições foram mantidas em todos os cultivos em biorreatores.

Foram testadas concentrações iniciais de glicerol de 30 e 45 g/L, utilizando como matéria-prima glicerina bruta 74% de glicerol.

2.2 Métodos analíticos

2.2.1 Biomassa

Após cultivo da cepa LFM634, fez-se uma curva de peso seco medindo sua absorbância em um espectrofotômetro a 600 nm, sendo obtido um fator (f) de 0.8162; onde [$\text{Biomassa}(\text{g/L}) = (f) \cdot \text{Abs}$]. Foram feitas cinéticas de crescimento de biomassa em todos os cultivos baseados na curva de peso seco.

2.2.2 Quantificação de Glicerol e Ramnolipídeo

Amostras retiradas dos cultivos foram centrifugadas por 10 minutos a 10^4 rpm. A partir de sobrenadante, a determinação da concentração de ramnolipídeo foi feita pelo método descrito por (Almeida, 2011), que consiste na acidificação da amostra até pH próximo de 3 com ácido sulfúrico concentrado, seguido de banho-maria a 98°C por 4 horas. Após neutralização da amostra, esta foi filtrada e injetada no *High-*

performance liquid chromatography (HPLC Agilent Technologies) equipado com coluna HPX-87H (BioRad - 300mm x 7.8 mm), obtendo-se a quantificação de ramnose. Através de uma curva previamente elaborada por espectrometria de massas foi possível fazer a conversão matemática deste valor a ramnolípido. A determinação do glicerol foi feita diretamente no HPLC (Garcia-Ortega et al., 2016). Para ambas análises (ramnose e glicerol) em HPLC foi usada temperatura de 40°C, utilizando como fase móvel solução 0.0032M de ácido sulfúrico com fluxo de 0.6mL/min e volume de injeção de amostra igual a 20 µL.

2.3 Análise Econômica

A primeira etapa da análise econômica consistiu em levantamento de dados bibliográficos com o objetivo de estimar parâmetros como capacidade de produção da planta a ser projetada e o preço de venda esperado. A partir dessas informações e dados obtidos experimentalmente em bancada, é possível determinar o balanço de massa pelo Excel. Em seguida, o processo pode ser simulado através do programa *SuperPro Designer (Intelligen, Inc)* (SPD) com o objetivo de obter o dimensionamento e número dos equipamentos, balanço de massa de matéria-prima e utilidades e outros parâmetros importantes para a análise econômica.

2.3.1 Custo Fixo dos Equipamentos

O custo fixo dos equipamentos é o parâmetro principal nas análises técnico-econômica preliminares, pois é usado para o cálculo de custos fixos de investimento (FCI) e dos custos variáveis de operação. A metodologia mais confiável para estimar o custo de equipamentos é apresentada por Peters et al. (2006). Consiste em obter os preços reais de equipamentos análogos, mesmo que com dimensões diferentes e mesmo que a cotação tenha sido feita em anos anteriores, e aplicar uma correção (Magalhães, 2019) de acordo com a equação 1. É possível utilizar a ferramenta de calculadora de custo de equipamentos disponível em <http://www.mhhe.com/engcs/chemical/peters/data/> para determinar os custos dos equipamentos para o ano de 2002. Em seguida, deve-se aplicar as correções necessárias:

$$C_{eq,2022} = C_{eq,b,2002} * \frac{CEPCI_{2022}}{CEPCI_{2002}} * \left(\frac{X}{X_b}\right)^n$$

Equação 1: custo de equipamento com correções de escala e temporal.

$C_{eq,2022}$ = Custo de aquisição do equipamento na dimensão X, em 2022

$C_{eq,b,2002}$ = Custo conhecido de aquisição do equipamento na dimensão X_b , em 2002

$CEPCI_{2002}$ = Chemical Engineering Plant Cost Index em 2002 = 395,6

$CEPCI_{2022}$ = Chemical Engineering Plant Cost Index em 2022 = 797,6

n = fator exponencial de custo característico de cada tipo de equipamento

2.3.2 Custo Fixo de Investimento

O custo fixo de investimento é responsável por incluir no montante de investimento necessário os custos para erguer a infraestrutura da planta, incluindo a instalação dos equipamentos. Uma metodologia muito utilizada são os multiplicadores de Lang e consiste na multiplicação do custo do equipamento por algum fator adequado para aproximar o investimento de capital fixo. Esses fatores variam dependendo do tipo de planta de processo que está sendo considerada, conforme detalhado por Peter et al (2006). O cálculo de custo de total de investimento pode ser realizado a partir do custo dos equipamentos principais do processo com acurácia na análise de viabilidade do processo 35% (Magalhães, 2019). Para o cálculo do custo fixo de equipamentos, foi utilizado o fator multiplicativo de Lang igual a 5 sobre o custo total dos equipamentos (Peters et al., 2006). Para o custo total dos equipamentos, foi considerado que os equipamentos não listados correspondem à 20% do custo total. Vale destacar que uma maneira de obter uma análise mais acurada é detalhar também quais são os equipamentos não listados (incluem bombas, compressores de ar, filtro de ar etc), obtendo assim um resultado com menos chances de erro.

Além disso do custo do investimento fixo, o custo do investimento total também vai incluir o capital de giro, custo para validação e *start-up* da planta. Existem diferentes formas de estimar esse valor e foram estabelecidos conforme sugestão do SPD. O capital de giro foi estabelecido como o custo para cobrir o gasto mensal de mão-de-obra, utilidades, matéria-prima e utilidades; enquanto o custo de validação e

start-up foi equivalente a 5% do custo fixo de investimento. Todas essas equações foram inseridas no SPD.

$$PC = LE + UE$$

Equação 2: Custo total de equipamentos

$$UE = 0,2 * PC$$

Equação 3: Equipamentos não listados

$$FCI = LF * PC$$

Equação 4: Custo de Investimento Fixo

$$TCI = FCI + WC + VC$$

Equação 5: Custo de Investimento Total

PC – Custo Total de Equipamentos

LE – Custo de equipamentos listados

UE – Custo de equipamentos não listados

FCI – Custo de Investimento Fixo (ou DFI ou CAPEX)

LF – Fator de Lang = 5

TCI – Custo Total de Investimento

WC – Capital de giro (*working capital*)

VC – Custo de validade e *start-up* da planta

Especificação do gasto	% do Custo Total dos Equipamentos (entregues na planta)		
	Processamento de sólidos	Processamento de sólidos e fluidos	Processamento de fluidos
Custo dos equipamentos de processo	100	100	100
Instalação	45	39	47
Instrumentação e Controle (instal.)	18	26	36
Tubulação e Válvulas (instal.)	16	31	68
Eletricidade (instal.)	10	10	11
Construções, incluindo prédios de serviços	25	29	18
Pátio, ruas e estacionamento	15	12	10
Utilidades (instal.)	40	55	70
Total de custos diretos	269	302	360
Engenharia e Supervisão	33	32	33
Construção e Consultoria	39	34	41
Total de Custos Diretos e Indiretos	341	368	434
Custos de Contratos e despesas legais	21	23	26
Contingência	35	37	44
Capital Fixo Inicial	397	428	504
Fator de Lang para Capital Fixo Inicial	$F_{CFI} = 3,97$	$F_{CFI} = 4,28$	$F_{CFI} = 5,04$
Capital de Giro	70	75	89
Capital Total Investido	467	503	593
Fator de Lang para Capital Total Investido	$F_{CFI} = 4,67$	$F_{CFI} = 5,03$	$F_{CFI} = 5,93$

Figura 18 Detalhamento dos fatores de Lang

2.3.3 Custos de manufatura

Os custos de manufatura (ou operação, ou OPEX) incluem os custos diretos com manufatura (manutenção, reparo e supervisão dos equipamentos), fixos de manufatura (seguro e custos extras da planta), gerais de manufatura (administração, pesquisa e desenvolvimento, distribuição e venda). Uma metodologia bem estabelecida é a apresentada por Turton et al. (2001), onde esse custo é calculado a partir dos custos de matéria-prima, de utilidades, de mão-de-obra e fixo de investimento, de acordo com a equação 6. Essa metodologia, entretanto, não inclui depreciação dos equipamentos.

Por isso, para diminuir o erro associado a esse cálculo, o custo de manufatura foi calculado diretamente pelo SPD, de acordo com a equação 7. Foram considerados os custos de utilidades, matéria-prima, mão-de-obra e *facillity-dependent cost*. Esse

último custo foi composto da depreciação e manutenção dos equipamentos, ambos característicos para cada equipamento de acordo com sugestão do SPD.

$$COM = 0,18 * FCI + 2,73 * Col + 1,23 (Crm * Cul)$$

Equação 6: custo de manufatura.

$$COM = Crm + Cul + Col + Fdc$$

Equação 7: custo de manufatura.

COM = Custo de manufatura

Crm = Custo de matéria-prima (*Raw Material*)

Cul = Custo de Utilidades

Col = Custo de mão de obra (*Operating Labour*)

Fdc = *Facillity-dependent cost*

2.3.3.1 Custo de matérias-primas

O custo de matérias primas foi estimado com a partir do valor de importação médio, por quilo, em dólares, através dos dados disponíveis no portal de acesso às estatísticas de comércio exterior do Brasil (COMEX STAT, 2022), conforme na Tabela 1.

Tabela 1 Preços de insumos retirados de COMEXSTAT (2022).

Reagentes	Preço (U\$/kg)
NaNO ₃	\$ 9,38
MgSO ₄ .7H ₂ O	\$ 0,67
K ₂ HPO ₄	\$ 1,55
KH ₂ PO ₄	\$ 3,60
Peptona	\$ 16,67
Extrato de Levedura	\$ 1,74
Glicerina Bruta	\$ 0,27
Glicerina Comercial	\$ 0,58
Ácido Sulfúrico	\$ 0,11
Hidróxido de Sódio	\$0,43

2.3.3.2 Custo de mão-de-obras

O custo de mão de obra foi estimado a partir do número de operadores sugeridos pelo próprio SPD. Para definir o pagamento da mão-de-obra, é importante definir a localização da planta. Uma vez que o maior produtor de glicerina bruta é o Rio Grande do Sul, foi considerado a média salarial de um operador técnico dessa localização. Além do próprio salário, existem outros custos associados como encargos sociais, benefícios, equipamentos etc. Portanto, com média salarial de R\$3.891, conversão de R\$5,50/U\$, mais os custos adicionais sugeridos pelo SPD, foi obtido um custo de U\$9,66/h por operador.

2.3.3.3 Custo de Utilidades

As utilidades típicas de processos são eletricidade, vapor d'água, fluidos de refrigeração, ar comprimido, água de resfriamento, água de aquecimento, óleo quente, água desmineralizada, água municipal de rios, lagoas ou oceano. Seus custos estão associados principalmente com questões inflacionárias e custo de energia, de acordo com a relação:

$$C_{s,u} = a (CEPCI) + b C_{s,f}$$

Equação 8: Cálculo do custo de utilidades

$C_{s,u}$ - Custo da utilidade (cuja unidade depende do tipo de utilidade);

a, b – Coeficientes da equação de custos de utilidades característicos de cada utilidade

$C_{s,u}$ – Custo do preço do combustível (\$/GJ).

Para simplificação, os valores das utilidades foram retirados de (Magalhães, 2019) ou mantidos conforme sugestão do SPD:

Tabela 2 Preços de utilidades utilizadas

Descrição	Preço	Referência
Água	0,07 (U\$/t)	Magalhães (2019)
Água de resfriamento (24°C)	0,015 (U\$/t)	Magalhães (2019)

Vapor	10,00 (U\$/t)	Magalhães (2019)
Energia	0,06 (U\$/kWh)	Magalhães (2019)

2.3.4 Análise Econômica

A viabilidade técnico econômica foi realizada em planilha Excel e SPD, acompanhando os seguintes parâmetros: fluxo de caixa acumulado (FCC), taxa interna de retorno (TIR), valor presente líquido (VPL), *PayBack Time* (PBT), *PayBack Time descontado* (PBTD) e preço mínimo de venda (MSP).

O FCC é de acordo com a equação 4. A partir da receita anual, custo operacional e a depreciação, é obtido o lucro líquido. Sobre ele é subtraído uma taxa de imposto (definida em 40%), obtendo o lucro líquido final. É adicionado a depreciação a este valor, e chega-se ao fluxo de caixa líquido. Esse valor é calculado para todos os anos do projeto e seu somatório representa o fluxo de caixa acumulado.

Esse cálculo, entretanto, desconsidera o comportamento do dinheiro em função do tempo. Por isso, é necessário fazer uma correção e recalcular os valores de fluxo de caixa nos anos futuros a valores presente (equação 5). O somatório desses valores resulta no VPL, o principal parâmetro da análise econômica. Representa o valor resultante ao final do projeto, expressando diretamente sua viabilidade, onde valores positivos indicam um processo viável economicamente.

Esse valor depende da taxa de desconto utilizada para o cálculo dos valores presentes, que é a taxa interna de retorno de interesse (IR). Nesse trabalho foi utilizado 11%. Um parâmetro importante da análise econômica é o valor máximo de taxa de interesse que ainda garante um VPL positivo. Essa taxa é chamada de taxa interna de retorno (TIR). Assim, o investimento será economicamente atraente somente se a TIR for maior do que a taxa mínima de interesse. Entre duas alternativas econômicas com TIR diferentes, a que apresenta a maior taxa representa o investimento que proporciona o maior retorno.

O PBT representa o tempo a partir do qual o projeto passa a dar retorno financeiro - quanto menor esse valor, mais rápido o projeto gera retorno, podendo ser, portanto, um importante critério de escolha de projetos. O PBT é calculado a partir dos fluxos de caixa anuais e os PBTD a partir dos seus valores presentes.

O MSP representa o menor valor de venda do produto que gera um VPL positivo. Ou seja, quanto menor esse valor, melhor o projeto. Valores mínimos de

venda muito altos podem inviabilizar um projeto caso esteja muito acima da faixa de mercado.

Para fazer obter esses parâmetros de análise econômica, foi considerado um projeto de 15 anos, sendo a produção da planta finalizada ao fim do primeiro ano. No segundo e terceiro ano, a planta opera com capacidades de 60% e 80%, produzindo a capacidade máxima no terceiro em diante. A localização da planta foi definida sendo no Rio Grande do Sul, por ser maior estado produtor de glicerina bruta. O preço de venda foi estimado em 100 UD\$/kg, conforme discutido no item 1.4.2. A depreciação foi linear ao longo de 10 anos. Os impostos foram estabelecidos em 40% e os parâmetros foram calculados para taxas interna de retorno de interesse iguais a 7, 9 e 11%; consideradas baixa, média e alta.

$$CFi = (Pv * p - COM.p - d.FCI)(1 - T) + d * FCI$$

Equação 4: fluxo de caixa anual

$$PVi = \frac{CFi}{(1 + IR)^{t,i}}$$

Equação 5: valor presente anual

$$VPL = \sum CFi$$

Equação 6: Valor presente líquido

CFi - Fluxo de caixa no ano *i*

PVi – Valor presente no ano *i*

IR – Taxa de Interna de retorno de Interesse

ti – Ano de projeto

PVi – Valor presente no ano *i*

Pv – Preço de venda

p – Produção anual

d – Depreciação

T – Imposto

Capítulo III - Resultados e Discussão

3.1 Produção de Ramnolipídeo

3.1.1 Comparação entre glicerina bruta e glicerina comercial

O estudo da comparação em glicerina comercial e glicerina bruta ocorreu em cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* LFM634 em frascos agitados, conforme descrito no item 2.1.3. Através da quantificação de glicerol, biomassa e ramnolipídeos foi possível estabelecer as cinéticas de processo (Figura 19). As produções utilizando glicerina comercial e glicerina bruta foram finalizadas quando a concentração de glicerol estava próxima a 0 g/L, o que ocorreu com 115 horas de processo. Atingiram ao final do processo concentrações de ramnolipídeos de $5,5 \pm 0,1$ (g/L) e $5,3 \pm 0,3$ (g/L), respectivamente. Pelo Teste Z no Excel, os resultados foram considerados estatisticamente iguais.

Observando os valores de conversão (Tabela 3) e analisando os valores de Y_{xs} e P_x , é possível inferir que o cultivo com glicerina comercial favoreceu uma maior produção de biomassa. Entretanto, a conversão biomassa em ramnolipídeo foi maior utilizando a glicerina bruta, indicando que as células foram melhores produtoras com esse substrato. Essa diferença pode ser explicada pela diferença na composição dos dois substratos: a glicerina comercial tem o mínimo de 99,5% de glicerol enquanto a bruta brasileira pode variar entre 30 e 90%. Em média, a composição de glicerol gira em torno de 74,4% na glicerina bruta, com umidade 9,7% e lipídeos totais 7,8%; além de cinzas, sódio, fósforo, cálcio, metanol etc (Oliveira et al., 2013). Por um lado, a presença de alguns desses componentes pode ter influenciado negativamente no crescimento da bactéria. Em contrapartida, as *Pseudomonas aeruginosa* são capazes assimilar os lipídeos como substrato que pode ser convertido em produto (Soberón-Chávez et al., 2005).

Mesmo sem diferenças significativas na quantidade de produto obtido, a utilização de glicerina bruta apresenta grande vantagem frente a glicerina comercial por tratar-se de um produto mais barato que dispensa determinadas etapas de purificação, utilizando menor recurso de utilidades e energia. Com base nisso, a produção em biorreatores de bancada foi executada já utilizando glicerina bruta como matéria-prima.

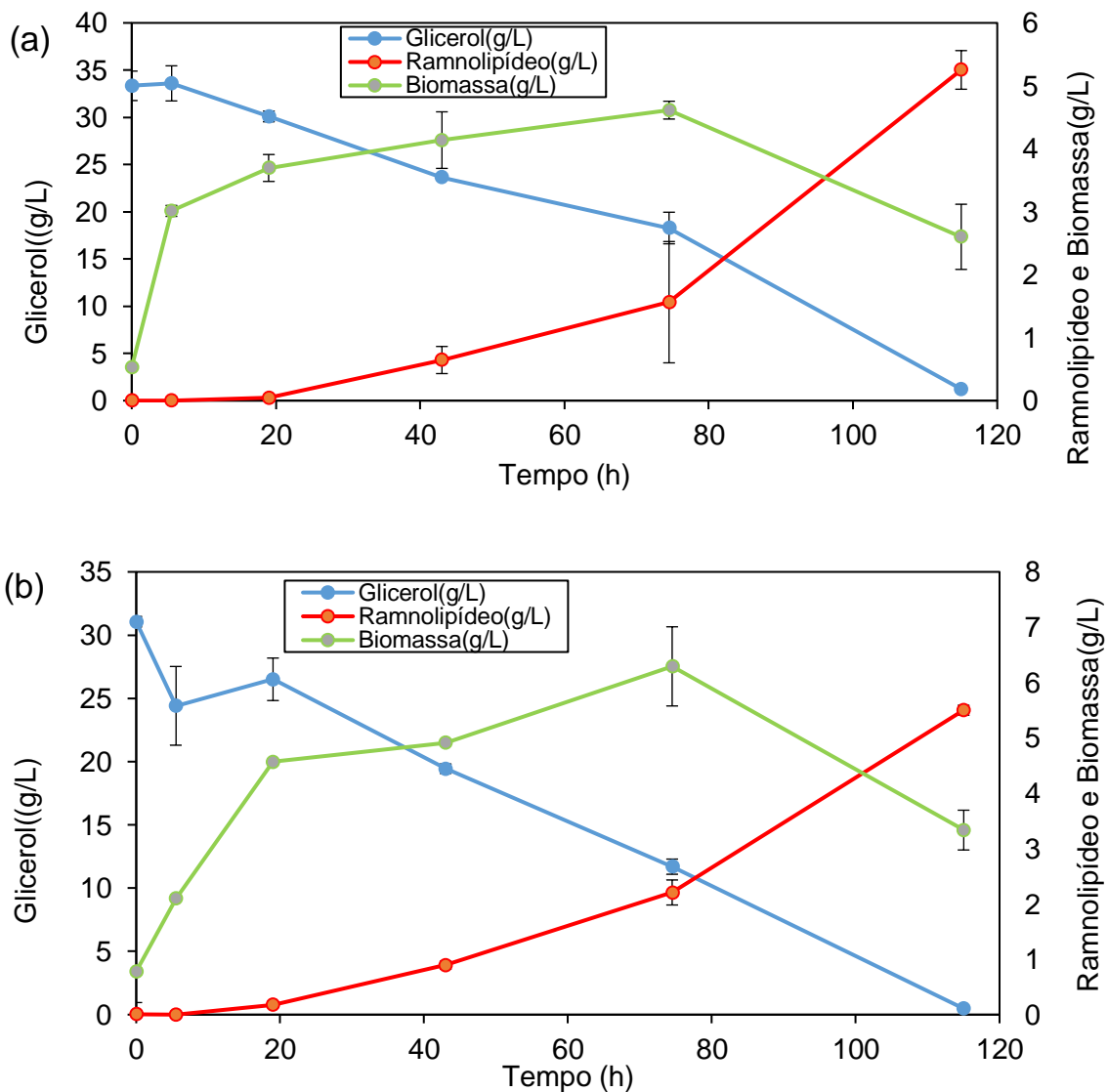


Figura 19 Cinética da produção de ramnolipídeos em frascos agitados com (a) glicerina bruta e (b) comercial.

Tabela 3: Valores de conversões e produtividades dos cultivos em frasco

Parâmetros	$Y_{p/x}$ gg^{-1} ^a	$Y_{p/s}$ gg^{-1} ^b	$Y_{x/s}$ gg^{-1} ^c	P_p $mgL^{-1}h^{-1}$ ^d	P_x $mgL^{-1}h^{-1}$ ^e
Glicerina Comercial	0,87	0,18	0,21	47,8	54,7

^a Fator de rendimento de biomassa em produto

^b Fator de conversão de substrato em produto

^c Fator de conversão substrato em biomassa

^d Produtividade volumétrica de produto

^e Produtividade volumétrica de biomassa

Glicerina Bruta	1,14	0,16	0,14	45,7	40,1
-----------------	------	------	------	------	------

3.1.2 Cultivo em Biorreator utilizando Glicerina Bruta

Uma vez definida que a produção com glicerina bruta é vantajosa, essa foi a matéria-prima utilizada para a produção em biorreator de bancada. É importante destacar que do cultivo em frasco agitado para biorreatores de bancada muitas novas variáveis passam a influenciar na produção: a presença de chicanas; uma maior agitação que tende a permitir melhor transferência de massa e homogeneização do meio; melhor controle do $k_L a$ através de agitação, altura da pá e gaseificação; controle instantâneo de pH, maior pressão sofridas nas células pela coluna de meio etc. Assim, é fundamental que após o estudo em frasco agitado a produção seja executada em biorreatores de bancada, levando em conta todas esses novos fatores. Foram testadas duas condições de cultivo: bateladas simples com concentrações iniciais de glicérol de 45 g/L (cultivo A) e 30 g/L (cultivo B)

Com as cinéticas apresentadas na Figura 20, é possível fazer algumas constatações. A produção de ramnolipídeo tem início ainda na fase de desaceleração, mas variando de maneira significativa apenas na fase estacionária, sendo, portanto, uma produção parcialmente associada ao crescimento – com contribuição maior dos termos não-associados ao crescimento. O cultivo A atingiu 4,2 g/L de ramnolipídeos após 115 horas de processo, resultando em P_p de $36,5 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$. Já o cultivo iniciado B, atingiu concentração final de 8,3g/L em 239h, resultando em P_p de $34,9 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$. Esses valores foram próximos ao cultivo em frasco, sendo as condições de operação

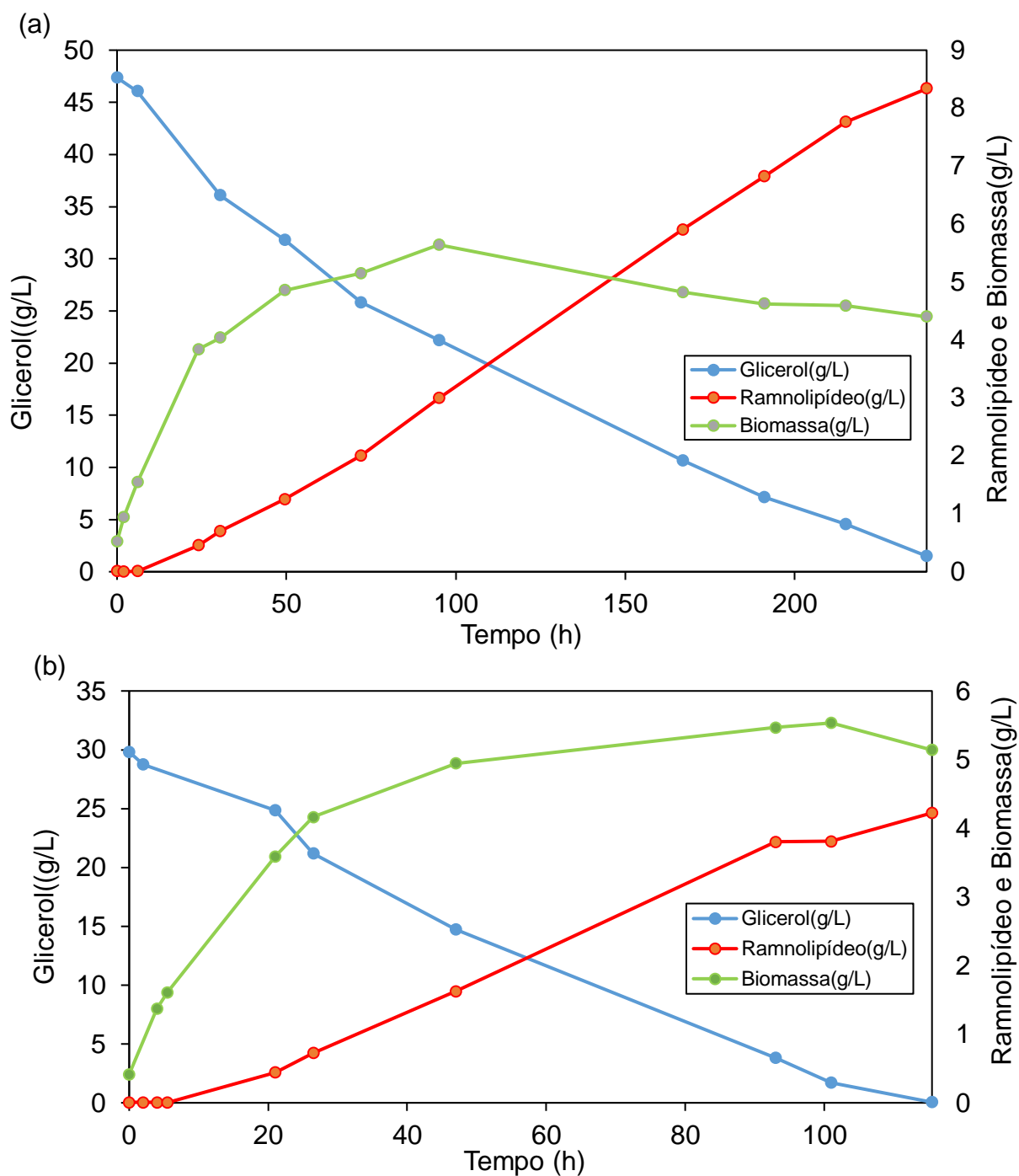


Figura 20 Cinéticas dos cultivos em batelada simples em biorreator de 8L utilizando glicerina bruta em concentrações iniciais de glicerol de (a) 45 g/L e (b) 30g/L. do biorreator satisfatórias. Assim, os parâmetros referentes a cada uma das duas condições diferentes de cultivo foram utilizados para os a simulação no SPD.

Tabela 4 Parâmetros da produção de ramnolípídeo em biorreator de bancada para os cultivos A e B.

Parâmetro	Cultivo A	Cultivo B
$Y_{px} \text{ gg}^{-1}$	1,48	0,76
$Y_{ps} \text{ gg}^{-1}$	0,18	0,14
$Y_{xs} \text{ gg}^{-1}$	0,12	0,19
$P_p \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$	34,9	36,5
$P_x \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$	98,0	104,2
RML (g/L)	8,36	4,22

As produtividades de biomassa, dessa vez calculadas ao início das fases estacionárias, foram bem próximas. Isso indica que nenhuma das condições favoreceu uma produção acelerada de biomassa. Ambas atingiram valores máximo de concentração de biomassa próximos (5,64 e 5,50 g/L), indicando que a maior produção de ramnolípídeos não foi devido à eventual maior quantidade celular, mas sim a condições de cultivos mais favoráveis. Isso também é refletido no fator de rendimento de biomassa em produto, que foi aproximadamente o dobro para o cultivo A, indicando que as condições favoreceram que as células direcionassem seu metabolismo para a produção do bioproduto. Por fim, a conversão de substrato em produto também foi maior para o cultivo A, concordando que as condições foram favoráveis à produção. Visto que as produtividades volumétricas foram bem próximas e foi atingido uma concentração de ramnolípídeo consideravelmente maior para o cultivo A esse apresentou um melhor desempenho.

Estes resultados são condizentes com o que já se sabe na literatura sobre o metabolismo de *Pseudomonas aeruginosa*. O ramnolípídeo é um metabólito secundário regulado por sistema *quórum sensing*, um sistema de comunicação entre microrganismos que depende da densidade populacional. Em bactérias, esse sistema tem como peça central a produção de compostos sinalizadores de baixa massa molecular, os autoindutores (AIs), que são liberados no ambiente. Quando uma quantidade limiar desses compostos é atingida, como consequência da alta densidade celular, as bactérias respondem por meio da ativação ou repressão de certos genes. Esse sistema é responsável por regular diversos fenótipos bacterianos e metabólitos secundários, como os ramnolípídeos (Campos-galvão, 2012).

Isso explica o motivo da produção do biotensoativo ser acentuada na fase estacionária, pois espera-se que nesse momento haja quantidade de autoindutor suficientes para regular positivamente a produção. Faz sentido supor que condições de cultivo que exponham uma mesma quantidade de biomassa a mais tempo em contato com autoindutores endógenos podem apresentar uma melhor produtividade.

Por isso, aumentar a concentração de matéria-prima, tornando a fase estacionária mais longa, parece ser uma boa estratégia para aumentar a produtividade. Um aumento exagerado pode ter efeito contrário relacionado, por exemplo, a uma maior viscosidade do meio e menor transferência de massa. Para saber a quantidade de substrato inicial ótima um estudo mais aprofundado pode ser feito no futuro, não sendo esse um objetivo deste trabalho. Pela mesma lógica, modos de operação como batelada alimentadas podem ser estratégias eficientes para aumentar a produção.

O estudo no SPD teve como objetivo analisar a viabilidade técnico-econômico de dois projetos, baseados nos dados obtidos com os cultivos com 45 e 30 g/L iniciais de glicerol e comparar os resultados – projetos A e B.

3.2 Simulação no *SuperPro Designer*

Os principais dados inseridos no SPD estão resumidos na Tabela 5 e Tabela 7, para os projetos A e B, respectivamente. Conforme discutido na revisão bibliográfica e metodologia, foi considerada uma produção de cerca de 400 t/ano de ramnolipídeos com preço de venda esperado em torno de 90-110 UD\$/kg, com pureza de 50-60%. Ainda será considerada a operação anual de 8300 h/ano (20 dias inoperantes por ano), com 1 ano de construção da planta e a capacidade nos 2 anos subsequentes serão de 60% e 80% da capacidade nominal da planta. Os parâmetros referentes à produção foram obtidos experimentalmente, conforme no item Cultivo em Biorreator utilizando Glicerina Bruta, enquanto os referentes às etapas de purificação foram baseados em Lohitharn & Derr (2016).

3.2.1 Projeto A: produção com 45 g/L iniciais de glicerol

O projeto da planta A foi baseado nos resultados experimentais da produção em biorreator de bancada iniciada com 45 g/L iniciais de glicerol, apresentados em

3.1.1. A parte de purificação foi obtida com dados da literatura, conforme descrito na Tabela 5. O fluxograma obtido pôde ser dividido em 5 setores principais, voltadas para (A) preparo de meio, (B) propagação de celular, (C) produção de ramnolipídeos, (D) preparo de água e (E) *downstream* (Figura 21). No setor de preparo de meio, a primeira linha é voltada para o preparo de meio de cultivo próprio para propagação celular. O primeiro equipamento da linha é um tanque de mistura que recebe três correntes: glicerina bruta, água e demais componentes sólidos. A corrente formada é esterilizada e segue para divisor de fluxo onde o meio será armazenado e enviado para os biorreatores no momento adequado. A segunda linha também é iniciada por um tanque de mistura, que dessa vez recebe correntes em quantidades e concentrações adequadas para compor o meio de produção.

A área de propagação de celular é formada por quatro biorreatores. O primeiro biorreator recebe, com 8,5h de processo, alimentação do meio de cultivo recém-esterilizado e armazenado, seguida da alimentação de água esterilizada e, por fim, biomassa. O cultivo dura 40 horas, quando todo o conteúdo do vaso é enviado para o próximo biorreator – que já se encontra alimentado com os demais componentes do meio de cultivo. O processo se repete até o quarto e último biorreator, cujo conteúdo é enviado para o biorreator principal, pertencente ao terceiro setor, de produção de ramnolipídeos. Os inóculos dos biorreatores de propagação são feitos com 5% do volume, enquanto o de produção recebe 10%.

É importante destacar que os meios de cultivo são adicionados ao biorreator concentrados e são diluídos para a concentração adequada através de uma corrente de água esterilizada provinda do quarto setor, de preparo de água. É formado por esterilizador, tanques de armazenamentos e distribuidores de fluxo.

O setor de *downstream* é o mais complexo e segue a metodologia apresentada por Lohitharn & Derr (2016). O primeiro equipamento é uma centrífuga que separa a biomassa do sobrenadante. Em seguida o sobrenadante é esterilizado e segue para um tanque de agitação onde é acidificado até pH 2.1 e o ramnolipídeo precipitado. Outra centrífuga é responsável por separar o ramnolipídeo sólido, que em seguida é ressuspensionado com adição de base até pH 7. Por fim, uma centrífuga é responsável

Tabela 5 Principais parâmetros utilizados e obtidos para a simulação no SPD para o projeto A

Parâmetros	Valor	Referência
Parâmetros inseridos		
Parâmetros Globais		
Tempo anual de operação(h)	8300	Koutinas et. al., 2016
Produção anual(t/ano)	400	Este Trabalho
Produção		
Tempo de Fase de Crescimento(h)	40	
Tempo de Cultivo(h)	239	
Rendimento de substrato em produto (g/g)	0,18	Este Trabalho
Rendimento de substrato em célula (g/g)	0,12	
Produtividade volumétrica (mg.L-1.h-1)	34,87	
Concentração Final de Produto (g/L)	8,33	
Purificação		
pH da precipitação ácida	2,1	
pH para ressuspensão	7	
Recuperação ao final da purificação	90%	Lohitharn & Derr, 2016
Pureza do produto final	50-60%	
Parâmetros obtidos		
Recuperação ao final do <i>downstream</i>	89,18%	
Número de ciclos	32	
Tempo da batelada (h)	703,5	
Tempo do ciclo principal (h)	245	<i>SuperPro</i>
Produção por ciclo (ton)	13,7	
Produção anual (ton)	438,5	
Concentração do produto	60,7%	

por separar a solução de ramnolipídeos dos 60% de sólidos indesejados. Essa corrente de saída é o produto de interesse.:

É interessante destacar que o SPD é capaz de otimizar o dimensionamento e número de dornas para manter os biorreatores ocupados o máximo de tempo possível dentro do tempo disponível. Isso implica que para uma demanda fixa de produto, maior tempo de ocupação de biorreatores vai gerar uma menor quantidade ou dimensão deles. No software, isso é verificado quando o tempo de cada ciclo de produção é definido pelo tempo de ocupação do reator principal, sendo essa a etapa lenta de toda a batelada.

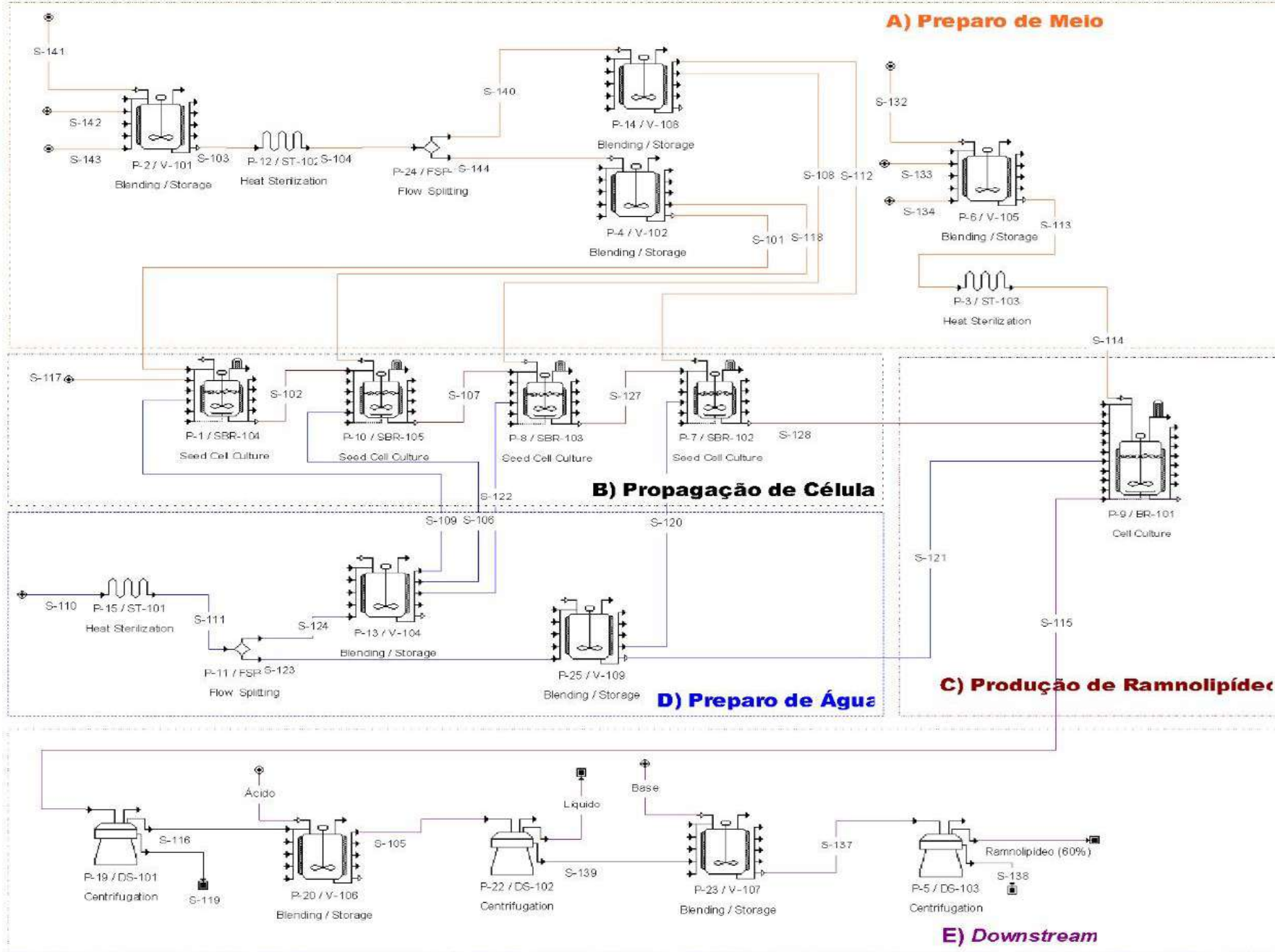


Figura 21 Fluxograma do processo obtido no SPD e sua divisão em setores.

3.2.1.1 Lista de Equipamentos

Como as plantas foram iguais, a lista dos equipamentos principais necessários para a planta projetada será a mesma, mudando apenas o dimensionamento e suas quantidades. Os resultados se encontram no Quadro 3. O valor total dos equipamentos listados foi UD\$11.480.241,44, que somando ao custo de equipamentos não listados, foi obtido um valor de custo total de equipamentos de UD\$14.350.284. O maior custo vem dos biorreatores de produção, representando mais de 45% do valor, seguido dos equipamentos, centrífugas, tanques de mistura, esterilizadores e biorreatores de propagação.

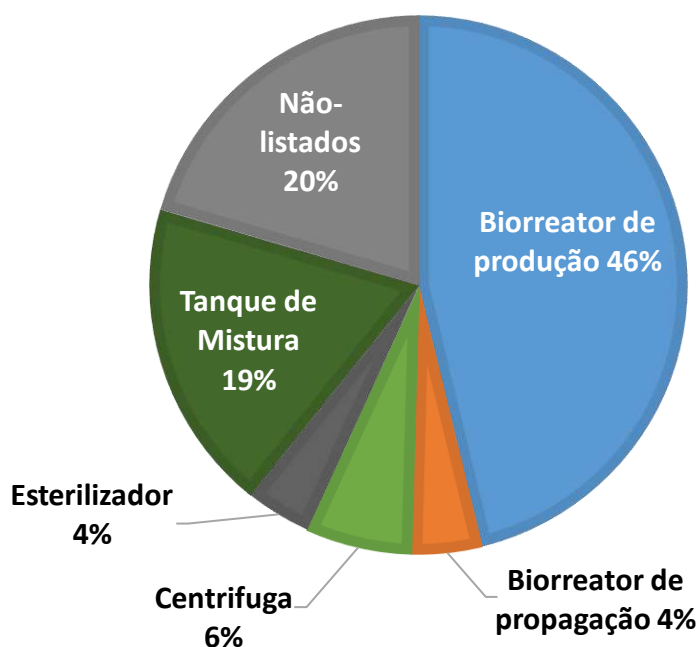


Figura 22 Distribuição dos custos de equipamentos do projeto A

É importante destacar que no SPD alguns equipamentos devem ter sua capacidade máxima limitada para não apresentarem em seu dimensionamento valores irreais. Assim, os biorreatores foram limitados em 450m³, com base no trabalho apresentado pela *Intelligence* (2020) em seu portfólio de exemplos de projetos – onde a limitação foi 400m³. Assim, para manter a produção inicialmente projetada, foram necessárias 6 unidades desses biorreatores, encarecendo o custo de equipamentos.

Quadro 1 Lista de equipamentos principais na planta A

Nome	Equipamento	Unid.	Capacidade		Valor (un.)	Material
BR-101	Biorreator de produção	6	386,4800	m3	\$ 1.105.263,61	SS316
SBR-104	Biorreator de propagação	1	0,0300	m3	\$ 3.495,98	Aço
SBR-105	Biorreator de propagação	1	0,5800	m3	\$ 17.946,00	Aço
SBR-103	Biorreator de propagação	1	11,6800	m3	\$ 92.459,90	Aço
SBR-102	Biorreator de propagação	1	232,5500	m3	\$ 491.853,96	Aço
DS-101	Centrífuga	1	20,11697222	L/s	\$ 1.324.391,32	SS316
DS-101	Centrífuga	1	0,3445	L/s	\$ 199.005,21	SS316
DS-103	Centrífuga	1	20,83833333	L/s	\$ 1.347.452,62	SS316
ST-101	Esterilizador	1	14.503,00	kw	\$ 470.308,08	Aço
ST-102	Esterilizador	1	143,80	kw	\$ 17.470,85	Aço
ST-103	Esterilizador	1	1.192,40	kw	\$ 78.836,59	Aço
V-101	Tanque de Mistura	1	28,12	m3	\$ 76.782,12	Aço
V-102	Tanque de Mistura	1	52,21	L	\$ 109.265,26	Aço
V-104	Tanque de Mistura	1	9,34	m3	\$ 42.924,43	Aço
V-105	Tanque de Mistura	1	172,95	m3	\$ 216.260,51	Aço
V-106	Tanque de Mistura	2	985,73	m3	\$ 583.182,58	Aço
V-107	Tanque de Mistura	1	28,25	m3	\$ 76.991,54	Aço
V-108	Tanque de Mistura	1	20,83037	L	\$ 65.416,91	Aço
V-109	Tanque de Mistura	2	929,68	m3	\$ 564.043,48	Aço

3.2.1.2 Custo Fixo de Investimento

A partir dos valores de custo dos equipamentos listados, é possível calcular os equipamentos não listados e o custo fixo de investimento, de acordo com o exposto no item Custo Fixo de Investimento Foi encontrado um valor igual a UD\$75.903.000.

3.2.1.3 Custo de Operação

O custo de operação (ou manufatura) depende dos custos de matéria-prima, utilidade, mão-de-obra e custo fixo de investimento, conforme discutido no item Custos de manufatura. Os cálculos desses valores foram executados conforme nos itens subsequentes e resultaram em um custo de manufatura de UD\$14.307.749/ano, distribuídos de acordo com a Figura 23.

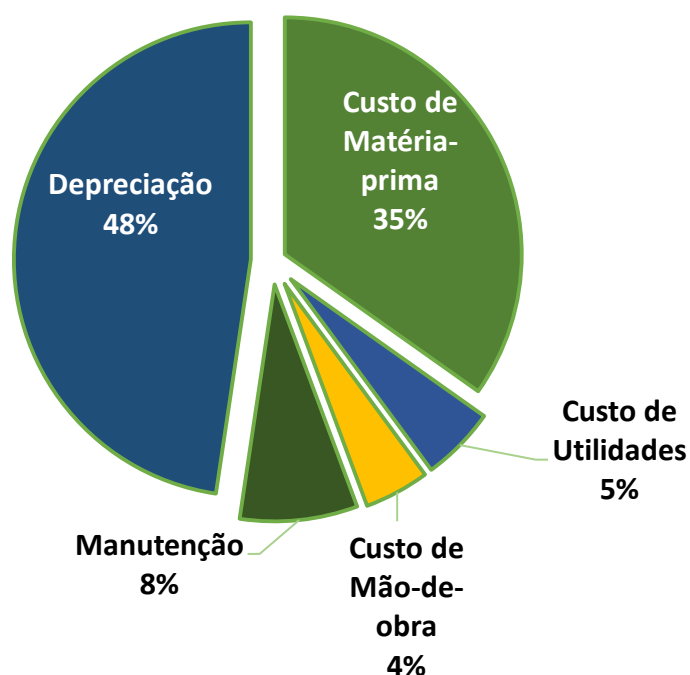


Figura 23 Distribuição dos custos de operação da planta A.

3.2.1.3.1 Custo de matéria-prima

O custo de matéria-prima foi UD\$4.980.072/ano, distribuídos de acordo com a tabela 11. É perceptível que a glicerina representa uma porcentagem relativamente pequena (11,69%) dos custos de matéria-prima, e ainda menores os custos de manufatura (4,1%). Dessa maneira, a substituição da glicerina comercial pela bruta

não parece ter grandes consequências financeiras para o processo, mas apresenta ganhos em termos ecológicos. Por outro lado, o nitrato de sódio é a matéria-prima mais cara, chegando a mais de 50% do custo. Estudos como o de Henning (2008) discute o uso de diferentes fontes de nitrogênio para a produção de ramnolipídeos, constatando que o melhor resultado é utilizando nitrato de sódio. Considerando que para cada kg de corrente de produto é utilizado apenas 0,37 kg de NaNO₃, dificilmente o ganho econômico ao substituir a fonte de nitrogênio compensará a menor produtividade. Assim, para um futuro estudo visando melhorar a rentabilidade desse projeto, esta não parece ser uma abordagem de grande interesse frente à outras maneiras de maior impacto.

Tabela 6 Quantidade matéria-prima utilizada para a produção e seus custos anuais

Matéria-prima	kg/ano	\$/ano	\$ (%)
Água	62.592.000	4.381	0,09%
K ₂ HPO ₄	372.152	576.836	11,58%
KH ₂ PO ₄	159.482	574.135	11,53%
MgSO ₄ .7H ₂ O	10.655	7.139	0,14%
NaNO ₃	270.398	2.536.333	50,93%
Peptona	26.581	443.105	8,90%
Extrato de Levedura	122.242	212.701	4,27%
Glicerina Bruta	2.155.264	581.921	11,69%
Biomassa	16	0	0,00%
Ácido Sulfúrico	152.505	16.776	0,34%
Hidróxido de Sódio	62.192	26.743	0,54%
TOTAL	65.923.487	4.980.070	100,00%

3.2.1.3.2 Custo de Mão-de-obra

O custo de mão de obra foi apenas UD\$ 635.137 por ano, representando um custo de apenas 4,4% do custo de manufatura, sendo a menor contribuição.

3.2.1.4 Estudo da Viabilidade Técnico-Econômica

A viabilidade técnico econômica será avaliada em termos de taxa interna de retorno (TIR), valor presente líquido (VPL), *PayBack Time* (PBT), *PayBack Time* descontado (PBTD), preço mínimo de venda (MSP) e fluxo de caixa acumulado (FCC). Todos foram obtidos diretamente pelo SPD e estão resumidos na tabela.

Quadro 2 Principais parâmetros da análise econômica obtidos e as considerações feitas para obtê-los (planta A)

Considerações	Valores
Tempo de Projeto (anos)	15
Depreciação	Linear (10 anos)
Imposto	40%
Preço de Venda (UD\$/kg)	100
IR	11%
Parâmetros	Valores
MSP (UD\$/kg)	30
VPL (UD\$)	194,9 M
PBTD (anos)	1,8
TIR (%)	47,73%
Retorno do Investimento	54,73%
Investimento Total(UD\$)	75,9M
Custo (UD\$/kg Produto)	19,82
Custo de Operação(UD\$/ano)	14,3M

3.2.2 Projeto B: produção com 30g/L iniciais de glicerol

A planta projetada foi idêntica ao caso de 45 g/L, mudando apenas dados relacionados às etapas *upstream*, gerando diferença nos tempos de processos e números de ciclos e dimensionamentos.

Tabela 7 Principais parâmetros utilizados e obtidos para a simulação no SPD para o projeto B

Parâmetros	Valor	Referência
Parâmetros inseridos		
Parâmetros Globais		
Tempo anual de operação(h)	8300	Koutinas et. al., 2016
Produção anual(t/ano)	400	Este Trabalho
Produção		
Tempo de Fase de Crescimento(h)	40	
Tempo de Cultivo(h)	115	
Rendimento de substrato em produto (g/g)	0,14	Este Trabalho
Rendimento de substrato em célula (g/g)	0,19	
Produtividade volumétrica (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	36,6	
Concentração Final de Produto (g/L)	4,22	
Purificação		
pH da precipitação ácida	2,1	
pH para ressuspensão	7	
Recuperação ao final da purificação	90%	Lohitharn & Derr, 2016
Pureza do produto final	50-60%	
Parâmetros obtidos		
Recuperação ao final do <i>downstream</i>	87,60%	
Número de ciclos	49	
Tempo da batelada (h)	338,45	
Tempo do ciclo principal (h)	165	<i>SuperPro</i>
Produção por ciclo (ton)	9,031	
Produção anual (ton)	415,4	
Concentração do produto	60,7%	

3.2.2.1 Lista de Equipamentos

A lista dos equipamentos principais necessários para a planta projetada, bem como suas capacidades e custos estão listadas no Quadro 3. Seus dimensionamentos foram calculados pelo SPD e seus custos foram obtidos conforme a metodologia e equacionamentos já descritos em Custo Fixo dos Equipamentos, resultando nos preços apresentados. O valor dos equipamentos principais foi UD\$17.521.636, que somado aos equipamentos não listados resultou em um custo total de equipamentos UD\$21.861.243. O maior custo vem dos biorreatores de produção, representando quase 40% do valor, seguido dos equipamentos não listados, centrífugas, tanques de mistura, esterilizadores e biorreatores de propagação.

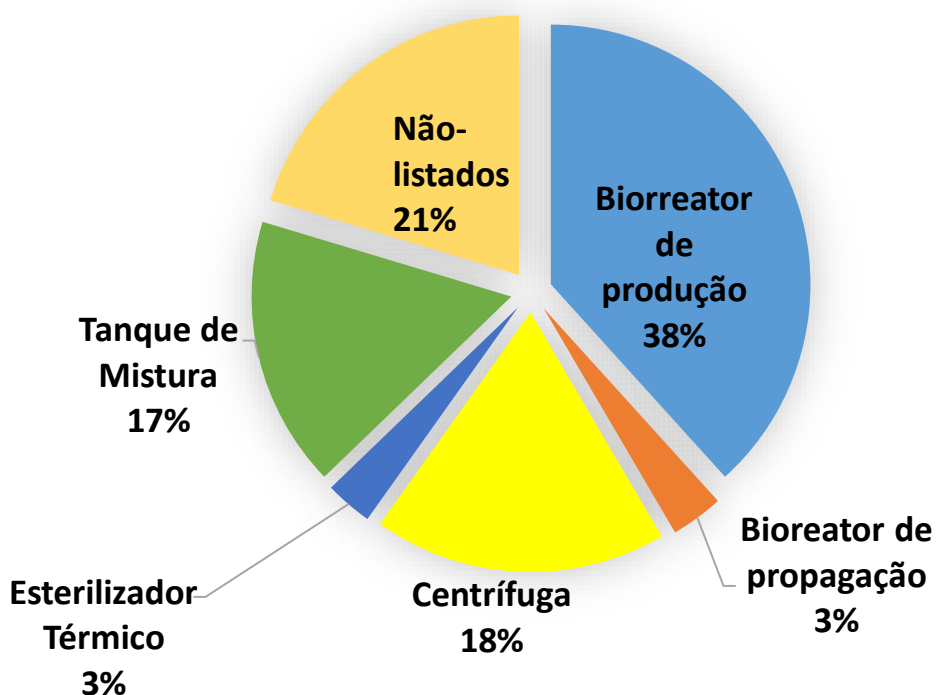


Figura 24 Distribuição dos custos de equipamentos do projeto B

Quadro 3 Lista dos equipamentos principais do projeto B

Nome	Equipamento	Unidades	Capacidade		Valor (UD\$)	Material
BR-101	Biorreator de produção	7	446,41	m3	1.198.190	SS316
SBR-104	Biorreator de propagação	1	0,04	m3	4.107	Aço
SBR-105	Biorreator de propagação	1	0,78	m3	21.097	Aço
SBR-103	Biorreator de propagação	1	15,67	m3	108.599	Aço
SBR-102	Biorreator de propagação	1	313,35	m3	581.251	Aço
V-101	Tanque de Mistura	1	28,166	m3	76.782	Aço
V-102	Tanque de Mistura	1	0,0742	m3	3.041	Aço
V-104	Tanque de Mistura	1	12,60	m3	49.963	Aço
V-105	Tanque de Mistura	1	233,28	m3	255.934	Aço
V-106	Tanque de Mistura	3	889,62	m3	550.062	Aço
V-107	Tanque de Mistura	1	19,67	m3	63.461	Aço
V-108	Tanque de Mistura	1	28,095	m3	76.405	Aço
V-109	Tanque de Mistura	3	835,46	m3	527.734	Aço
DS-102	Centrífuga	1	41,66	L/s	1.892.021	SS316
DS-101	Centrífuga	1	43,22	L/s	1.860.751	SS316
DS-103	Centrífuga	1	0,30	L/s	293.249	SS316
ST-101	Esterilizador Térmico	1	19549	kw	536.334	Aço
ST-102	Esterilizador Térmico	1	194	Kw	19.931	Aço
ST-103	Esterilizador Térmico	1	1608	Kw	99.058	Aço

3.2.2.2 Custo fixo de Investimento

A partir dos valores de custo dos equipamentos listados, é possível calcular os equipamentos não listados e o custo fixo de investimento, de acordo com o exposto no item Custo Fixo de Investimento Foi encontrado um valor igual a UD\$115.781.187.

3.2.2.3 Custos de Operação

O custo de operação (ou manufatura) depende dos custos de matéria-prima, utilidade e mão-de-obra; conforme discutido no item Custos de manufatura. Os cálculos desses valores foram executados conforme nos itens subsequentes e resultaram em um custo de manufatura de UD\$23.699.881/ano, com a distribuição descrita na Figura 25.

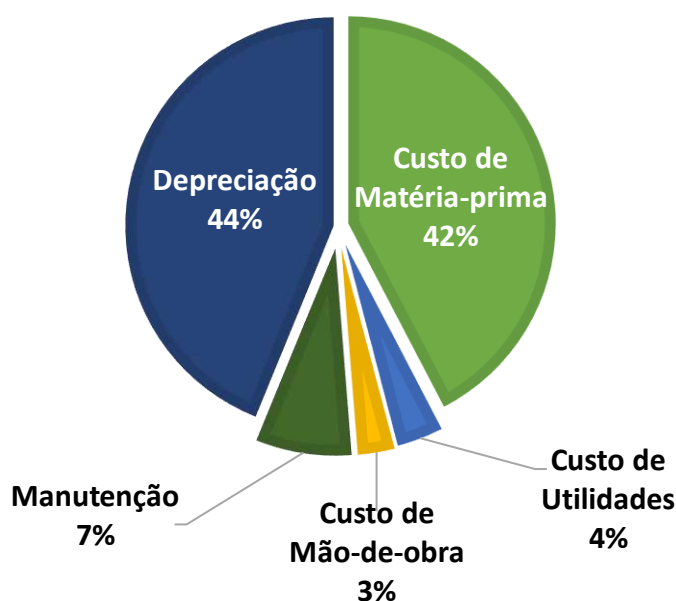


Figura 25 Distribuição do custo operacional para a planta B.

3.2.2.3.1 Custo de matéria-Prima

O custo de matéria-prima foi UD\$10.052.864/ano, representando 28% dos custos de manufatura. Analisando sua distribuição, percebe-se que o gasto com água é menos de 0,1% do total, porém representa cerca de 95% da massa utilizada por ano na produção. O uso excessivo de água é um problema típico de bioprocessos

conduzidos em submerso, que apesar não impactar significativamente nos custos, esbarra em desvantagens em termos ecológicos. Modos de condução alternativos

Tabela 8 Quantidade de matéria-prima utilizada para a produção na planta B.

Matéria-prima	kg/ano	\$/ano	\$ (%)
Água	114.697.415	8.850	0,09%
K ₂ HPO ₄	752.935	1.167.050	11,61%
KH ₂ PO ₄	322.662	1.161.583	11,55%
MgSO ₄ .7H ₂ O	21.557	14.443	0,14%
NaNO ₃	547.067	5.131.485	51,05%
Peptona	53.779	896.502	8,92%
Extrato de Levedura	247.318	430.334	4,28%
Glicerina Bruta	4.360.519	1.177.340	11,71%
Biomassa	24	0	0,00%
Ácido Sulfúrico	228.757	25.163	0,25%
Hidróxido de Sódio	93.288	40.114	0,40%
TOTAL	121.325.321	10.052.864	100,00%

como bateladas alimentadas ou sequenciais demonstram ser capazes de atingir concentrações maiores de produtos, requerendo, por conseguinte, menor montante de água. Estudos mais aprofundados considerando questões como a produtividade volumétrica, tempo de residência dos equipamentos principais e número de ciclos podem ser executados verificando a viabilidade técnico-econômica para outros modos de operação do processo.

3.2.2.3.2 Custo de mão-de-obra

O custo de mão de obra foi apenas UD\$ 614.529 por ano, representando um custo de apenas 2,6% do custo de manufatura.

3.2.2.3.3 Custo de Utilidades

O custo de utilidades foi obtido diretamente do SPD com base nos valores discutidos no item Custo de Utilidades. O custo foi de UD\$850.349/ano, distribuídos de acordo com a Tabela 9. Representou apenas 2,4% dos custos de manufatura. Conforme o esperado, o maior gasto é com energia, representando 72,3% do gasto de utilidades. Apenas os biorreatores principais presentes no setor de produção de ramnolipídeos são responsáveis por 63% de todo o gasto com utilidade.

Tabela 9 Custo de utilidade da planta B.

Utilidade	Custo(\$)	Quantidade (/ano)	Custo (\$/ano)	Custo anual (%)
Energia	0,06 kW-h ⁻¹	10.255.099 kWh	615.305,94	72,3
Vapor	12,70 ton ⁻¹	16.112 ton	204.626,17	24,1
Água de resfriamento	0,015 ton ⁻¹	2.027.845 ton	30.417,67	3,6
Total	-	-	850.349,78	100

3.2.2.4 Estudo de viabilidade técnico-econômica (EVTE)

A viabilidade técnico econômica foi realizada foi avaliada da mesma maneira que a planta A, com os resultados descritos no Quadro 4. A taxa interna de retorno (TIR) representa a taxa de juros que anula o Valor Presente Líquido. Assim, o investimento será economicamente atraente somente se a TIR for maior do que a taxa mínima de atratividade. Entre duas alternativas econômicas com TIR diferentes, a que apresenta a maior taxa representa o investimento que proporciona o maior retorno

Quadro 4 Principais parâmetros da análise econômica obtidos e as considerações feitas para obtê-los (planta B)

Considerações	Valores
Tempo de Projeto (anos)	15
Depreciação	Linear (10 anos)
Imposto	40%
Preço de Venda (UD\$/kg)	100
IR	11%
Parâmetros	Valores
MSP (UD\$/kg)	53,10
VPL (UD\$)	110,4 M
PBTD (anos)	2,97
TIR (%)	27,27%
Retorno do Investimento	33,68%
Investimento Total(UD\$)	115,8M
Custo (UD\$/kg Produto)	33,2
Custo de Operação(UD\$/ano)	23,7M

Esse parâmetro foi obtido por iteração no Microsoft Excel e correspondeu a taxa de 24,1%. Considerando a taxa mínima de atratividade como 15%, podemos dizer que, com base apenas nesse parâmetro, o projeto se mostrou economicamente atraente.

Também foi calculado o preço mínimo de venda (MSP), através de métodos iterativos do Excel, sendo esse o valor mínimo preço de venda necessário para garantir um VPL positivo ao final do projeto. Foi obtido por iteração no Microsoft Excel, resultando em UD\$83/kg.

3.2.3 Comparação dos projetos

Os dois projetos apresentaram resultados positivos e se mostraram viáveis economicamente. Apesar disso, houveram algumas diferenças marcantes entre os casos.

O investimento total do projeto B foi mais de 50% maior em comparação com o investimento do projeto A. O principal responsável por essa diferença é o setor de produção: os biorreatores principais do projeto B custaram 26% a mais, com diferença de 1,7M. Isto ocorreu pois com a limitação de biorreatores de até 450m³, foram necessárias 7 unidades de biorreatores de 446m³ para o projeto B contra 6 unidades de 386m³ para o projeto A, causando essa discrepância no custo.

A explicação está nos tempos de cada ciclo dos projetos. O cultivo do projeto A dura 239h e o ciclo principal tem 245h, enquanto o cultivo do projeto B dura 116h e cada ciclo de produção dura 165h. Isso quer dizer que, conforme discutido no item 3.2.1, apenas a primeira planta foi planejada de uma forma otimizada maximizando o uso dos biorreatores. Uma vez que a quantidade de produto era fixa para os dois projetos, as produtividades volumétricas eram próximas e os biorreatores do projeto B não operavam o tempo integral do ciclo, era esperado que fosse necessária maior capacidade de biorreatores (em quantidade ou tamanho).

A etapa lenta do projeto B foi o tanque V-109, que armazena água estéril antes de enviá-la para os biorreatores de produção e propagação. O tempo de armazenamento entre o recebimento da água e sua transferência para o último biorreator é de 165h, maior que o tempo de cultivo do biorreator principal (115h), forçando um tempo ocioso ao equipamento principal. O mesmo fluxograma faz sentido para o projeto A, pois esse tempo é menor que o tempo de fermentação (236h). As

consequências dessas diferenças foram perceptíveis nos resultados de análise econômica.

Para uma planta industrial baseada nas condições de cultivo definidas para o projeto B, os equipamentos devem sofrer algumas modificações. A injeção de água estéril diretamente nos biorreatores de propagação e produção, sem a etapa de armazenamento, é uma possibilidade para otimizar o número de ciclos. Para isso, podem ser acrescentados mais um tanque e dois esterilizadores, conforme na Figura 26. Essa nova configuração possibilitou a otimização, aumentando o número de ciclos de 49 para 66. O gasto a mais gerado pelos novos equipamentos seria compensado pela menor demanda de biorreatores em termos de dimensão ou quantidade – visto que esses representam um custo consideravelmente maior que os demais equipamentos, conforme já discutido. Além disso, observando os dados de custo de operação, é possível perceber a maior parcela é devido à depreciação, que é relacionado diretamente com o custo de aquisição do equipamento. Dessa maneira, essa nova

Quadro 5 Comparação dos resultados encontrados para os projetos A e B

Considerações	Projeto A	Projeto B
Glicerol inicial (g/L)	45	30
Tempo de Projeto (anos)	15	
Depreciação	Linear (10 anos)	
Imposto	40%	
Preço de Venda (UD\$/kg)	100	
IR	11%	
Parâmetros	Valores	Valores
Preço Mínimo de Venda (UD\$/kg)	30,0	53,10
VPL (UD\$)	194,9 M	110,4 M
PBTD (anos)	1,8	2,97
TIR (%)	47,73%	27,27%
Retorno do Investimento	54,73%	33,68%
Equipamento total(UD\$)	14,4M	21,9M
Investimento Total(UD\$)	75,9M	115,8M
Custo (UD\$/kg Produto)	19,82	33,2
Custo de Operação(UD\$/ano)	14,3M	23,7M

planta além de ter a vantagem de ter um custo de equipamentos menor, teria seu custo operacional consideravelmente diminuído.

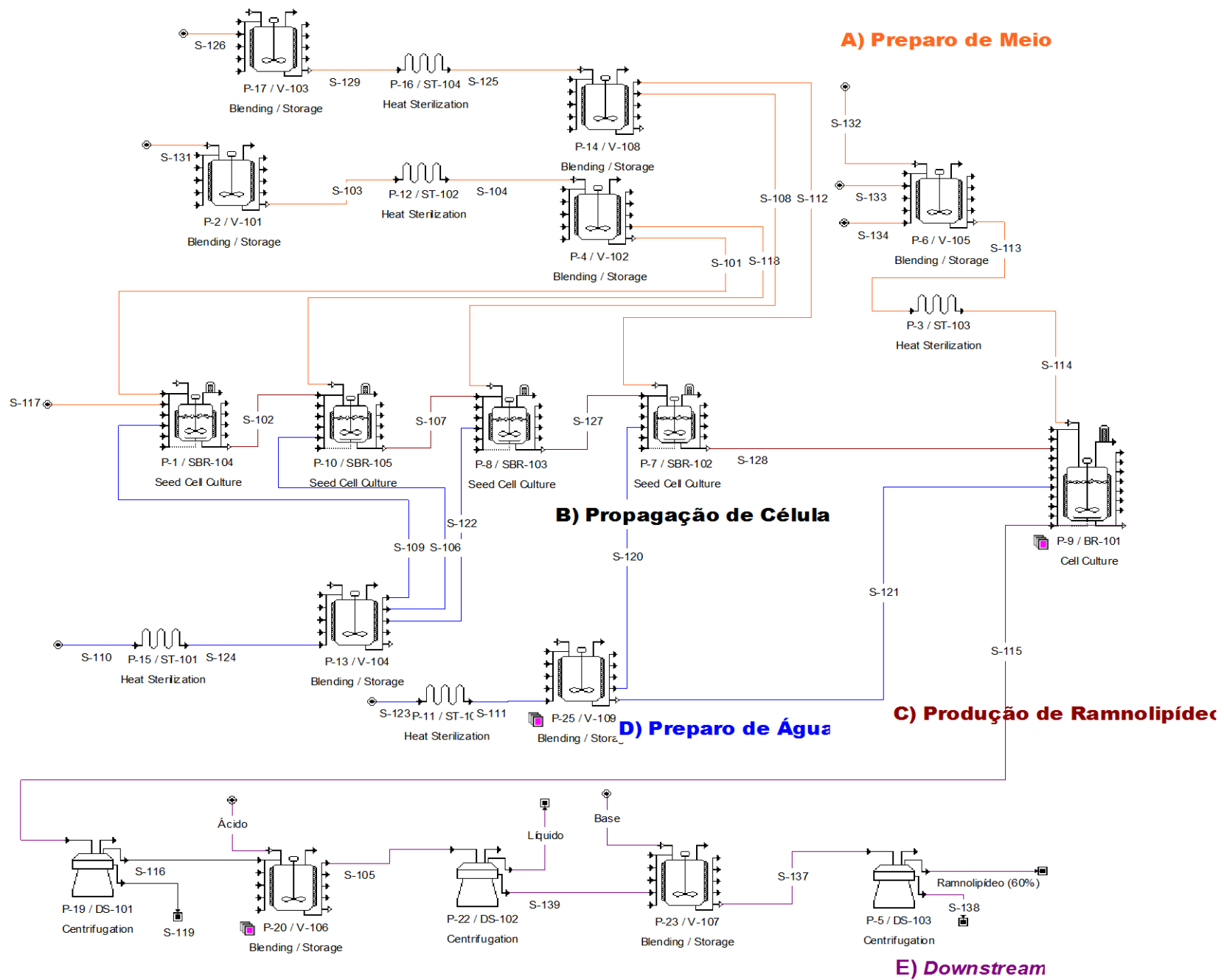


Figura 26 Fluxograma alternativo com tempo de ciclo otimizado para a planta projetada para cultivo com 30 g/L.

Considerando que o objetivo desse trabalho era averiguar a viabilidade da produção de ramnolípídeos sem compromisso de otimizá-la, a análise econômica levou em consideração apenas os dois cenários já apresentados. Apesar disso, essa discussão explicita a necessidade de um estudo *scale-up* adequado, uma vez que os resultados do projeto podem ser consideravelmente impactos a partir de pequenas variações em alguns parâmetros de produção - que devem ser bem definidos e a planta pensada de acordo com isso.

Ambos projetos, A e B, se mostram viáveis economicamente e promissores com, respectivamente, retorno de investimento de 55 e 34%. Esses valores foram obtidos considerando IR de 11% - inferior a TIR de 48 e 27%. Os comportamentos dos dois projetos foram semelhantes, mas as diferenças já discutidas refletiram em diferença em diversos parâmetros da análise econômica, sendo o projeto A melhor em todos.

Apresentou um preço de venda mínimo de UD\$30/kg, consideravelmente menor do que o preço de venda estipulado de UD\$100/kg – de maneira que a viabilidade do projeto é protegida mesmo diante de eventuais variações nos preços de venda. Os também PBDT foram satisfatórios, sendo o do projeto A apenas 1,8 anos.

Quanto aos custos de operação, o projeto B foi 66% mais caro, com 9,4M a mais. A maior contribuição para essa diferença foi da matéria-prima, sendo 5M mais caro para o projeto B. Isso não é surpresa, visto que nos dados de bancada foi possível dobrar a quantidade de produto ao aumentar apenas em 1.5 vezes um dos componentes, a glicerina. Além disso, a depreciação do projeto B foi 3,6M mais cara, o que está diretamente relacionado com a utilização de equipamentos mais caros. Outra constatação interessante é que, por atingir concentrações maiores de produto, o projeto A utilizou aproximadamente metade da água requerida em B, apresentando vantagem ainda em termos ecológicos.

Capítulo IV - Conclusões

4.1 Considerações Finais

O trabalho teve como objetivo realizar uma análise econômica preliminar e averiguar a viabilidade da implementação de uma planta produtora de ramnolipídeo em escala industrial utilizando glicerina bruta como matéria-prima. A primeira etapa foi um cultivo em frasco comparando glicerina comercial e glicerina bruta. Os resultados mostraram não haver diferença estatística na produção de ramnolipídeo com qualquer um dos produtos, que atingiram concentrações finais de produto próximas a 5 g/L. Os resultados sugerem não haver mudança econômica significativa com a utilização da glicerina bruta. Entretanto, sua maior vantagem é a utilização de uma matéria-prima residual e excedente no mercado brasileiro, contribuindo para a manutenção de uma economia mais sustentável.

Antes de simular uma planta industrial, é preciso obter uma gama de informações fundamentais para a análise. Parte delas vieram de experimentos de bancadas, onde foram realizadas produções de ramnolipídeos em biorreatores de 8L com duas condições diferentes: concentração inicial de glicerol de 45 e 30 g/L (cultivos A e B, respectivamente). Os resultados mostram que ambos tiveram produtividade volumétrica semelhante, mas o cultivo com maior quantidade de glicerol atingiu concentração de produto superior do que o outro: 8,36 e 4,22, respectivamente. Isso representa uma vantagem em termos de economia e água e menor gasto com matéria-prima.

Esse ganho de produção pode ser atrelado ao fato de o ramnolipídeo ser regulador por um sistema *quorum sensing*. Isto é, tem sua produção regulada positivamente com o aumento da densidade celular – por isso sua produção é mais acentuada na fase estacionária, quando há concentração máxima de biomassa. Executar a produção em bancada com modos de operação que explorem isso parece ser uma boa alternativa para trabalhos futuros.

Nesse contexto, cabe destacar a importância de um estudo de *scale-up* adequado, visto que pequenas mudanças nos parâmetros de produção podem gerar grandes impactos no resultado econômico. Além disso, é possível montar uma planta para determinada produção de diversas maneiras. Para que a planta esteja otimizada

e aproveitando o máximo de produtividade dos biorreatores, os parâmetros de produção devem estar bem definidos e condizerem com a montagem da planta.

Os projetos A e B foram comparados com a mesma planta, porém os resultados deixaram claro que aquela montagem não era a mais adequada para os dados obtidos em B. Era possível montar uma planta com dimensionamento de biorreatores menor, diminuindo o custo de investimento fixo e operação a partir da depreciação e que fosse capaz de produzir a mesma quantidade anual.

Apesar disso, ambas apresentaram resultados satisfatórios ao corroborarem com a viabilidade da produção de ramnolípídeo em escala industrial nos dois casos. O projeto A apresentou os melhores resultados: os parâmetros foram calculados para preço de venda igual a UD\$100/kg e apresentou um preço mínimo de venda de 30 UD\$/kg – consideravelmente menor que o valor de referência da literatura, 387 UD\$/kg pela empresa NatSurfact (NATSURFACT, 2019). Vale destacar que foi escolhido realizar a comercialização na forma de caldo concentrado (60%) pois é a maneira mais encontrada no mercado.

Mesmo com alto valor de investimento inicial, apresentou uma taxa de retorno de investimento de 54,7%, resultando em um *payback* descontado de 1,8 anos e VPL de 194,9M.

4.2 Perspectivas Futuras

Com base no que foi discutido, é importante que os parâmetros de produção sejam otimizados antes de serem projetados em escala industrial. Dessa maneira, os próximos passos são testar diferentes modos de operação de processo explorando o sistema *quorum sensing*. Serão testadas batelada alimentada em pulso, alimentada continuamente, alimentada sequencial e reciclo de celular. A partir disso, os melhores resultados serão produzidos em escala piloto (biorreator de 200L) e os dados produzidos utilizados para a elaboração de novos projetos no SPD verificando qual é mais vantajoso.

Capítulo V - Referências

- Abdel-mawgoud, A. M., Lépine, F., & Déziel, E. (2010). *Rhamnolipids : diversity of structures , microbial origins and roles*. 1323–1336. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2498-2>
- Almeida, H. (2012). *Glicerina – Produção cresce e estimula novos usos* . 15 Fevereiro 2012. Disponível em: < <https://www.quimica.com.br/glicerina-producao-cresce-e-estimula-novos-usos/>>. Acesso em 22 jun 2022.
- Almeida, K. L. (2011). *Produção de ramnolipídios por isolados de Pseudomonas : avaliação do efeito das fontes de carbono e nitrogênio na composição do ramnolipídio*.
- Alves, A. D. P., Rodrigues Filho, G. M., & Mendes, M. F. (2017). Avaliação Técnica De Diferentes Processos De Separação Para Purificação Do Glicerol Como Subproduto – Revisão. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, 6(5). <https://doi.org/10.5380/rber.v6i5.52601>
- Research Dive Analysis (2021). *Laundry Detergent mARKET*. 1–6.
- Andrä, J., Rademann, J., Koch, M. H. J., Heine, H., Zähringer, U., & Brandenburg, K. (2006). Endotoxin-like properties of a rhamnolipid exotoxin from Burkholderia (Pseudomonas) plantarii: Immune cell stimulation and biophysical characterization. *Biological Chemistry*, 387(3), 301–310. <https://doi.org/10.1515/BC.2006.040>
- ANP-Agência Nacional do Petróleo, G. N. e B. (2021). Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2021. *Anp/Mme*, 8–247. <https://www.gov.br/anp> e <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes>
- Apati, G. P. (2012). *Síntese, caracterização e degradação de P(3HB) por cupriavidus necator, utilizando glicerol como substrato*. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA.
- Industry ARC, I.(2017). *Report* : https://www.industryarc.com/Report/17769/glycerol-market.html?https://www.industryarc.com/Report/17769/glycerol-market.html&gclid=Cj0KCQjwz7uRBhDRARIsAFqjull_LhAFqLHlc6C0hKhqVGFOB-

Ur8UXUtf7bFoQdkirbcYHYMMKefDMaAuWJEALw_wcB#

Astuti, D. I., Purwasena, I. A., Putri, R. E., Amaniyah, M., & Sugai, Y. (2019). Screening and characterization of biosurfactant produced by *Pseudoxanthomonas* sp. G3 and its applicability for enhanced oil recovery. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, 9(3), 2279–2289.

<https://doi.org/10.1007/s13202-019-0619-8>

Bafghi, M. K., & Fazaelpoor, M. H. (2012). Application of rhamnolipid in the formulation of a detergent. *Journal of Surfactants and Detergents*, 15(6), 679–684.

<https://doi.org/10.1007/s11743-012-1386-4>

Bain & Company. (2014). *Potencial de diversidade da indústria química Brasileira – Tensoativos*. 52. <http://www.bndes.gov.br/>

Barbosa, C. A. (2012). *Produção de ácidos graxos por processos enzimáticos e químicos : uma análise econômica comparativa*. UFRJ.

Barbosa, U. R. (2009). Avaliação do glicerol proveniente da fabricação do biodiesel como substrato para produção de endotoxinas por *Bacillus thuringiensis* var . israelensis Avaliação do glicerol proveniente da fabricação do biodiesel como substrato para produção de endotoxinas. *Culture*, 133.

Beatriz, A., Araújo, Y. J. K., & De Lima, D. P. (2011). Glicerol: Um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. *Quimica Nova*, 34(2), 306–319.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000200025>

BIODIESELBR. (2021). [*CBBR 2021*] *O mercado de glicerina em 2021*.

Biooekonomie.de. (2017). Novel biosurfactants to hit the market. 2017, 1–2.

<https://biooekonomie.de/en/news/novel-biosurfactants-hit-market>

Brisson, D., Vohl, M. C., St-Pierre, J., Hudson, T. J., & Gaudet, D. (2001). Glycerol: A neglected variable in metabolic processes? *BioEssays*, 23(6), 534–542.

<https://doi.org/10.1002/bies.1073>

Cameotra, S. S., & Makkar, R. S. (2004). *Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules*. 262–266.

<https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.04.006>

Campos-galvão, M. E. M. (2012). *SINALIZAÇÃO POR QUORUM SENSING EM Salmonella enterica sorovar Enteritidis*.

CHIMELLO, C. M., BRUZA, F. B., RAMOS, M. J., SILVA, R. C. S. E., & KREMER, C. K. (2012). *ESTUDO SOBRE A ESCOLHA DO TIPO DE DETERGENTE UTILIZADO PELOS CONSUMIDORES DE ITATIBA*. 8, 36–42.

Ching, W. H., & Rodrigues, C. W. (Coord. . (2007). Cartilha sobre Biodiesel. *Sebrae - Serviço Brasileiro De Apoio Às Micro E Pequenas Empresas*, 65.

Christofi, N., & Ivshina, I. (2016). Microbial surfactants and their use in soil remediation. *Bioremediation of Aquatic and Terrestrial Ecosystems*, 311–327. <https://doi.org/10.1201/b11002-9>

Christova, N., Tuleva, B., Kril, A., Georgieva, M., Konstantinov, S., Terziyski, I., Nikolova, B., & Stoineva, I. (2013). Chemical structure and in vitro antitumor activity of rhamnolipids from pseudomonas aeruginosa BN10. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(3), 676–689. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0225-z>

Costa, M. J. C., De Sousa, J. T., Leite, V. D., Da Lopes, W. S., & Santos, K. D. (2007). Anaerobic codigestion of surfactants substances, oil and sludge of sewage. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 12(4), 433–439. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522007000400010>

Daltin, D. (2011). Tensioativos: química, propriedades e aplicações. In *Tensoativos química, propriedades e aplicações*. <http://www.usp.br/massa/2014/qfl2453/pdf/Tensoativos-livrodeDecioDaltin-Capitulo1.pdf>

Desai, J. D., & Banat, I. M. (1997). Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 61(1), 47–64. <https://doi.org/10.1128/.61.1.47-64.1997>

Duarte, A. M. (2018). *Estudo dos rhamnolipídeos em condições de pré e pós-sal para aplicação em MEOR- ex situ*.

Dusane, D. H., Zinjarde, S. S., Venugopalan, V. P., McLean, R. J. C., Weber, M. M., & Rahman, P. K. S. M. (2010). Quorum sensing: Implications on rhamnolipid biosurfactant production. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 27(1),

159–184. <https://doi.org/10.1080/02648725.2010.10648149>

Faber, M. O. (2021). *APROVEITAMENTO BIOTECNOLÓGICO DA GLICERINA RESIDUAL DO BIODIESEL PARA GERAÇÃO DE HIDROGÊNIO, 1,3-PROPANODIOL E METANO*.

Felipe, L. de O., & Dias, S. de C. (2017). Surfactantes sintéticos e biosurfactantes: vantagens e desvantagens. *Química Nova Na Escola*, 39(3), 228–236. <https://doi.org/10.21577/0104-8899.20160079>

Fernandes, P. L., Rodrigues, E. M., Paiva, F. R., Ayupe, B. A. L., McInerney, M. J., & Tótola, M. R. (2016). Biosurfactant, solvents and polymer production by *Bacillus subtilis* RI4914 and their application for enhanced oil recovery. *Fuel*, 180, 551–557. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.04.080>

Garcia-Ortega, X., Adelantado, N., Ferrer, P., Montesinos, J. L., & Valero, F. (2016). A step forward to improve recombinant protein production in *Pichia pastoris*: From specific growth rate effect on protein secretion to carbon-starving conditions as advanced strategy. *Process Biochemistry*, 51(6), 681–691. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.02.018>

Glycerol Market Size, Share & Trends Analysis Report By Source (Biodiesel, Fatty Alcohol, Fatty Acids, Soaps), By Type (Crude, Refined), By End Use, By Region, And Segment Forecasts, 2021 - 2027. (2021). <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-glycerol-market#:~:text=Glycerol Market Growth %26 Trends,6.4%25 from 2021 to 2027>.

Gudiña, E. J., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2010). Isolation and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lactobacillus paracasei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 76(1), 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.11.008>

Gunther IV, N. W., Nuñez, A., Fortis, L., & Solaiman, D. K. Y. (2006). Proteomic based investigation of rhamnolipid production by *Pseudomonas chlororaphis* strain NRRL B-30761. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 914–920. <https://doi.org/10.1007/s10295-006-0169-1>

Helmy, Q., Gustiani, S., & Mustikawati, A. T. (2020). Application of rhamnolipid

biosurfactant for bio-detergent formulation. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 823(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/823/1/012014>

Evonik Industries. (2022). *Evonik constrói a primeira planta do mundo para a produção de ramnolipídios em escala industrial*. <https://central-south-america.evonik.com/pt/evonik-constroiu-a-primeira-planta-do-mundo-para-a-producao-de-ramnolipidios-em-escala-industrial-169117.html>

Inès, M., & Dhouha, G. (2015). Peptides Lipopeptide surfactants : Production , recovery and pore forming capacity. *Peptides*, 71, 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.07.006>

Fortune Business Insights (2021a). *Biosurfactants Market Size*. 1–7. <https://www.fortunebusinessinsights.com/biosurfactants-market-102761>

Fortune Business Insights (2021b). *Surfactant Market Size*. 1–7. <https://www.fortunebusinessinsights.com/surfactants-market-102385>

Intelligence. (2020). *SuperPro Designer Examples*.

Mordor Intelligence (2022a). *GLOBAL BIO-SURFACTANTS MARKET (2022 - 2027)*.

Mordor Intelligence(2022b). *MERCADO DE SURFACTANTES - CRESCIMENTO , TENDÊNCIAS , IMPACTO DO COVID- 19 E PREVISÕES (2022 - 2027)*. 1–8.

Mordor Intelligence (2022c). *RHAMNOLIPIDS MARKET - GROWTH , TRENDS , COVID-19 IMPACT , AND FORECASTS*. 1–6.

Irfan-Maqsood, M., & Seddiq-Shams, M. (2014). Rhamnolipids: Well-Characterized Glycolipids with Potential Broad Applicability as Biosurfactants. *Industrial Biotechnology*, 10(4), 285–291. <https://doi.org/10.1089/ind.2014.0003>

Jeneil Biosurfactant Company. (2022). *Jeneil ' s natural biosurfactant products*. <https://www.jeneilbiotech.com/biosurfactants>

Liu, G., Peng, Z., Lan, T., Xu, X., Huang, G., Yu, S., Liu, G., & Li, J. (2015). Health risk assessment on pesticide residues in drinking water in Shenzhen. *Wei Sheng Yan Jiu = Journal of Hygiene Research*, 44(2), 264–269. <https://doi.org/10.4236/odem.2018.64010>

Liu, H., Shao, B., Long, X., Yao, Y., & Meng, Q. (2016). Foliar penetration enhanced

by biosurfactant rhamnolipid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 145, 548–554.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.05.058>

Lohitharn, N., & Derr, D. (2016). *PRODUCTION OF RHAMNOLIPID COMPOSITIONS* (Patent No. US 2016/0272667 A1).

Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. (2009). Natural surfactants used in cosmetics: Glycolipids. *International Journal of Cosmetic Science*, 31(4), 255–261.
<https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00493.x>

Magalhães, A. V. (2019). *Análise Técnico-Econômica Preliminar Do Processo De Produção De Surfactina*. 160. <http://portal.peq.coppe.ufrj.br/index.php/producao-academica/dissertacoes-de-mestrado/2019/606--163/file>

Mata-Sandoval, J. C., Karns, J., & Torrents, A. (2001). Effect of nutritional and environmental conditions on the production and composition of rhamnolipids by *P. Aeruginosa* UG2. *Microbiological Research*, 155(4), 249–256.
[https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(01\)80001-X](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(01)80001-X)

McClure, C. D., & Schiller, N. L. (1992). Effects of *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids on human monocyte-derived macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, 51(2), 97–102. <https://doi.org/10.1002/jlb.51.2.97>

Meinicke, R. M. (2008). *Estudo da produção de pigmentos por Monascus ruber CCT 3802 utilizando glicerol como substrato em cultivo submerso*. 117.

Melo, A. C., Costa, R., & Apresentação, N. P. (2016). Processo Fermentativo para Produção de Etanol utilizando glicerol bruto como substrato. In *Congresso Controladoria e Contabilidade USP*. Universidade Federal do Ceará.

Meyer-Hoffert, U., Zimmermann, A., Czapp, M., Bartels, J., Koblyakova, Y., Gläser, R., Schröder, J. M., & Gerstel, U. (2011). Flagellin delivery by *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids induces the antimicrobial protein psoriasin in human skin. *PLoS ONE*, 6(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016433>

Monteiro, S. A. (2007). *Caracterização Molecular e Estrutural de Biosurfactantes Produzidos por Pseudomonas aeruginosa UFPEDA 614*. 118.

Morrison, L. R. (1994). Glycerol. *Encyclopedia of Chemical Technology*, New York: Wiley, 921-932.

- Mota, C. J. A., Silva, C. X. A. D., & Gonçalves, V. L. C. (2009). Glycerochemistry: New Products and Processes from Glycerin of Biodiesel Production. *Quimica Nova*, 32(3), 639–648. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422009000300008>
- Nguyen, T. T. L., Edelen, A., Neighbors, B., & Sabatini, D. A. (2010). Biocompatible lecithin-based microemulsions with rhamnolipid and sophorolipid biosurfactants: Formulation and potential applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 348(2), 498–504. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.04.053>
- Nitschke, M., & Pastore, G. M. (2002). Biossurfactantes: Propriedades e aplicações. *Quimica Nova*, 25(5), 772–776. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000500013>
- Oliveira, F. J. S., Vazquez, L., de Campos, N. P., & de França, F. P. (2009). Production of rhamnolipids by a *Pseudomonas alcaligenes* strain. *Process Biochemistry*, 44(4), 383–389. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.11.014>
- Oliveira, J. S., Antoniassi, R., Freitas, S. C., & Müller, M. D. (2013). Composição química da glicerina produzida por usinas de biodiesel no Brasil e potencial de uso na alimentação animal. *Ciencia Rural*, 43(3), 509–512. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000300022>
- Olkowska, E., Ruman, M., & Polkowska, Z. (2014). Occurrence of surface active agents in the environment. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2014(March). <https://doi.org/10.1155/2014/769708>
- Onbasli, D., & Aslim, B. (2009). Determination of rhamnolipid biosurfactant production in molasses by some *Pseudomonas* spp. *New Biotechnology*, 25, S255. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2009.06.569>
- Pachione, R. (2020). *Tensoativos – Consumo cresce , mas busca alternativas*. 2–5.
- Paulino, B. N., Pessôa, M. G., Mano, M. C. R., Molina, G., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2016). Current status in biotechnological production and applications of glycolipid biosurfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(24), 10265–10293. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7980-z>
- Peiter, G. C., Alves, H. J., Sequinel, R., & Bautitz, I. R. (2016). ALTERNATIVAS PARA O USO DO GLICEROL PRODUZIDO A PARTIR DO BIODIESEL. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, May, 31–48.

Peters, M. S., Timmerhaus, K. D., & West, R. E. (2006). *Plant Design and Economics for Chemical Engineers* (Vol. 1999, Issue December).

Petrobras. (2020). *Óleo Diesel*. <https://petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/produtos/automotivos/oleo-diesel/>

Pinheiro, R. S., César, A. da S., & Batalha, M. O. (2010, October 12). Impactos da produção de glicerina derivada de biodiesel em outros setores : um estudo multi-casos. *XXX Encontro Nacional de Engenharia de Produção*, 11.

http://www.gepai.dep.ufscar.br/pdfs/1290774831_TNSTO11374116034.pdf

Unilever PLC. (2012). *Rhamnolipids with improved cleaning*. 10170402.1. 22 jun 2010, 25 jan 2012

Rahimi, K., Lotfabad, T. B., Jabeen, F., & Mohammad Ganji, S. (2019). Cytotoxic effects of mono- and di-rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* MR01 on MCF-7 human breast cancer cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 181(May), 943–952. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.058>

Research, G. V. (2021). *Glycerol Market Size. 2021–2027*.

<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/glycerol-market>

Research, G. V. (2022). *Dishwashing Detergent Market Size , Share & Trends Analysis Report By Product (Machine Dishwashing Key Companies & Market Share Insights*.

Research, M. M. (2020). *Global Rhamnolipid Market : Industry Analysis and Forecast (2020-2026) – By Type , Application , and Region . 9607365656*, 1–6.

<https://www.maximizemarketresearch.com/market-report/global-rhamnolipid-market/103014/>

Rikalović, M. G., Vrvic, M. M., & Karadžić, I. M. (2015). Rhamnolipid biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* - From discovery to application in contemporary technology. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80(3), 279–304.

<https://doi.org/10.2298/JSC140627096R>

Rodrigues, A. I., Gudiña, E. J., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2017). Sodium chloride effect on the aggregation behaviour of rhamnolipids and their antifungal activity. *Scientific Reports*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13424-x>

- Rodrigues, M. S. (2016). *Produção de biossurfactantes utilizando melaço de soja*.
- Rooney, A. P., Price, N. P. J., Ray, K. J., & Kuo, T. M. (2009). Isolation and characterization of rhamnolipid-producing bacterial strains from a biodiesel facility. *FEMS Microbiology Letters*, 295(1), 82–87. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01581.x>
- Rosenberg, E., & Ron, E. Z. (1999). High- and low-molecular-mass microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52(2), 154–162. <https://doi.org/10.1007/s002530051502>
- Santos, A. S., Sampaio, A. P. W., Vasquez, G. S., Santa Anna, L. M., Pereira, N., & Freire, D. M. G. (2002). Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of rhamnolipids by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 98–100, 1025–1035. <https://doi.org/10.1385/ABAB:98-100:1-9:1025>
- Santos, C. V. M., Vieira, I. M. M., Santos, B. L. P., Ruzene, D. S., & Silva, D. P. (2021). *Biossurfactante - Conceitos Gerais E Perspectivas*. 319–342. <https://doi.org/10.37885/210604986>
- Santos, A. S. dos, Junior, N. P., & Freire, D. M. G. (2016). *Strategies for Improved Rhamnolipid Production by Pseudomonas Aeruginosa PA1*.
- SILVA, L. V. DA. (2000). Produção de ácido cítrico por *Yarrowia lipolytica* utilizando Glicerol como fonte de Carbono. *Escola de Química Da Universidade Federal Do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado. Rio de Janeiro.*, 109.
- Silva, V. L., Lovaglio, R. B., Tozzi, H. H., & Contiero, J. (2015). *Rhamnolipids : A New Application in Seeds Development*. 1(8), 100–106.
- Soares dos Santos, A., Pereira Jr, N., & Freire, D. M. G. (2016). Strategies for improved rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* PA1. *PeerJ*, 4, e2078. <https://doi.org/10.7717/peerj.2078>
- Soberón-Chávez, G., Lépine, F., & Déziel, E. (2005). Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68(6), 718–725. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0150-3>
- Sotirova, A. V., Spasova, D. I., Galabova, D. N., Karpenko, E., & Shulga, A. (2008).

Rhamnolipid-biosurfactant permeabilizing effects on gram-positive and gram-negative bacterial strains. *Current Microbiology*, 56(6), 639–644.

<https://doi.org/10.1007/s00284-008-9139-3>

Sousa, J. R., Correia, J. A. C., Melo, V. M. M., Gonçalves, L. R. B., & Cruz, A. J. G. (2014). Kinetic and characterization of rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* MSIC02 using glycerol as carbon source. *Química Nova*, 37(3), 431–441. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140064>

Sousa, M., Melo, V. M. M., Rodrigues, S., Sant'ana, H. B., & Gonçalves, L. R. B. (2012). Screening of biosurfactant-producing *Bacillus* strains using glycerol from the biodiesel synthesis as main carbon source. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35(6), 897–906. <https://doi.org/10.1007/s00449-011-0674-0>

Spier, F. (2014). *Produção de lipídios microbianos a partir de glicerol bruto gerado na síntese de biodiesel*. 190. <http://repositorio.furg.br/handle/1/6357>

Stipcevic, T., Piljac, A., & Piljac, G. (2006). Enhanced healing of full-thickness burn wounds using di-rhamnolipid. *Burns*, 32(1), 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2005.07.004>

Technavio. (2022). *Rhamnolipids Market Size to Grow by USD 35 . 86 Million | 39 % of the market growth to originate from Europe | Technavio*.

Thakur, P., Saini, N. K., Thakur, V. K., Gupta, V. K., Saini, R. V., & Saini, A. K. (2021). Rhamnolipid the Glycolipid Biosurfactant: Emerging trends and promising strategies in the field of biotechnology and biomedicine. *Microbial Cell Factories*, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01497-9>

Tiso, T., Thies, S., Müller, M., Tsvetanova, L., Carraresi, L., Bröring, S., Jaeger, K.-E., & Blank, L. M. (2017). *Rhamnolipids: Production, Performance, and Application BT - Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Production of Fuels and Chemicals* (S. Y. Lee (Ed.); pp. 587–622). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50436-0_388

Tiso, T., Thies, S., Müller, M., Tsvetanova, L., Carraresi, L., Bröring, S., Jaeger, K., & Blank, L. M. (2016). Rhamnolipids: Production, Performance, and Application. In *Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids:*

Production of Fuels and Chemicals. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-31421-1>

Turton, R., Bailie, R. C., Whiting, W. B., Shaeiwitz, J. A., & Bhattacharyya, D. (2001). *Analysis, Synthesis, and Design of Chemical Processes* (Vol. 40, Issue 6).

[https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010316\)40:6<9823::AID-ANIE9823>3.3.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010316)40:6<9823::AID-ANIE9823>3.3.CO;2-C)

Vatsa, P., Sanchez, L., Clement, C., Baillieul, F., & Dorey, S. (2010). Rhamnolipid biosurfactants as new players in animal and plant defense against microbes.

International Journal of Molecular Sciences, 11(12), 5095–5108.

<https://doi.org/10.3390/ijms11125095>